

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Dainius Šimelevičius

**KOMPIUTERINIS SUDĖTINGŲ BIOKATALIZĖS
PROCESŲ BIOJUTIKLIUOSE MODELIAVIMAS**

Daktaro disertacija
Fiziniai mokslai, informatika (09 P)

Vilnius, 2013

Disertacija rengta 2007–2013 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas:

prof. dr. Romas Baronas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P)

Konsultantas:

prof. habil. dr. Feliksas Ivanauskas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, informatika – 09 P)

Disertacija parengta įgyvendinant projektą „Kompiuterinių metodų, algoritmų ir įrankių efektyviam sudėtingos geometrijos biojutiklių modeliavimui ir optimizavimui sukūrimas“, finansuojamą iš ES Socialinio fondo pagal VP1-3.1-ŠMM-07-K priemonę „Parama mokslininkų ir kitų tyrėjų mokslinei veiklai (Visuotinė dotacija)“ lėšų (sutarties Nr. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583).

Padėkos

Pirmiausia noriu padėkoti savo moksliniam vadovui prof. dr. Romui Baronui už tai, kad pasiūlė modeliuoti biojutiklius, už vadovavimą mano moksliniams tyrimams ir už palaikymą, prof. habil. dr. Juozui Kuliui iš Biochemijos instituto už naudingus patarimus ir mokslines diskusijas, prof. habil. dr. Arvydui Survilai iš Fizinių ir technologijos mokslų centro už supažindinimą su elektrochemine kinetika ir už neįkainojamas konsultacijas.

Noriu padėkoti dr. Karoliui Petrauskui už įdomias ir vertingas mokslines diskusijas. Mano vadovui VŠĮ „Aukštieji algoritmai“ dr. Pranui Japertui už supratingumą.

Taip pat noriu padėkoti savo žmonai Jurgitai už kantrybę ir palaikymą visus doktorantūros metus ir už disertacijos rankraščio sintaksės bei stiliaus korektūrą. Mamai Reginai dėkoju už palaikymą.

Dėkoju Lietuvos valstybiniam mokslo ir studijų fondui ir Lietuvos mokslo tarybai už finansinę paramą.

Turinys

Įvadas	7
Tiriamoji problema ir jos aktualumas	7
Darbo tikslas ir sprendžiami uždaviniai	8
Darbo naujumas ir reikšmė	9
Ginamieji teiginiai	9
Publikacijų sąrašas	10
Disertacijos struktūra	11
1 Biojutikliai ir jų modeliavimas	12
1.1 Biojutikliai	12
1.2 Cheminiai bei fizikiniai procesai biojutikliuose	14
1.2.1 Cheminė kinetika	14
1.2.2 Fermentų kinetika	15
1.2.3 Elektrocheminė kinetika	18
1.2.4 Difuzijos dėsniai	20
1.2.5 Difuzijos sluoksnio modeliai	20
1.3 Reakcijos-difuzijos procesų matematinis modeliavimas	22
1.4 Skaitinis modeliavimas	24
1.5 Inhibicijos bei sinergijos procesų biojutikliuose modeliavimas	27
1.6 Apibendrinimas	28
2 Biojutiklių, veikiančių sudėtingų biokatalizės procesų pagrindu, matematiniai modeliai	30
2.1 Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu matematinis modelis	30
2.1.1 Cheminės reakcijos biojutiklyje	30
2.1.2 Biojutiklio struktūra	31
2.1.3 Pagrindinės lygtys	31
2.1.4 Pradinės ir kraštinės sąlygos	33
2.1.5 Kvazistacionarumo prielaida	34
2.1.6 Biojutiklio atsakas	36
2.1.7 Efektyvioji Michaelio konstanta	37

2.1.8	Bedimensis matematinis modelis	38
2.2	Biojutiklio su substratų sinergija matematinis modelis	40
2.2.1	Cheminės reakcijos biojutiklyje	41
2.2.2	Biojutiklio struktūra	42
2.2.3	Pagrindinės lygtys	43
2.2.4	Pradinės sąlygos	44
2.2.5	Derinimo sąlygos	45
2.2.6	Kraštinės sąlygos	45
2.2.7	Biojutiklio atsakas	46
2.2.8	Bedimensis matematinis modelis	48
2.3	Apibendrinimas	51
3	Biojutiklių modeliavimo automatizavimas	52
3.1	Apibendrintasis biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis	52
3.1.1	Dalykinės srities modelio aprašymas	52
3.1.2	Matematinis modelis	55
3.1.3	Skaitinis modelis	58
3.1.4	Skaitinio uždavinio sprendimas	60
3.1.5	Programinė įranga	62
3.2	Universalusis biojutiklio modelis	66
3.2.1	Dalykinės srities modelio aprašymas	66
3.2.2	Matematinis modelis	69
3.2.3	Skaitinis modelis	72
3.2.4	Skaičiavimų algoritmai	74
3.2.5	Programinė įranga	77
3.3	Apibendrinimas	77
4	Skaitinis biojutiklių savybių tyrimas	78
4.1	Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu skaitinis savybių tyrimas	78
4.1.1	Kompiuterinio modeliavimo eksperimentai	78
4.1.2	Biojutiklio atsako dinamika	80
4.1.3	Biojutiklio atsako priklausomybė nuo substrato koncentracijos	81
4.1.4	Biojutiklio atsako nemonotoniškumas	82
4.1.5	Biojutiklio jautrio priklausomybė nuo substrato koncentracijos	83

4.1.6	Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo inhibicijos substratu ir produktu	86
4.1.7	Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo difuzijos modulio	87
4.1.8	Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo Biot skaičiaus	89
4.2	Biojutiklio su substratų sinergija skaitinis savybių tyrimas . . .	90
4.2.1	Biojutiklio veikimo kompiuterinis modeliavimas	90
4.2.2	Skaitinio modelio patvirtinimas	90
4.2.3	Sinergijos efekto modeliavimas	92
4.2.4	Biojutiklio atsako dinamika	94
4.2.5	Substratų koncentracijų įtaka biojutiklio atsakui	95
4.2.6	Biojutiklio atsako sandara	97
4.2.7	Substratų sinergijos įtaka biojutiklio atsakui	98
4.3	Apibendrinimas	100
	Išvados	101
	Autoriaus publikacijos	102
	Literatūra	103
	Curriculum Vitae	110

Įvadas

Tiriamoji problema ir jos aktualumas

Cheminiai jutikliai yra prietaisai, transformuojantys cheminę informaciją, tokią kaip specifinės medžiagos koncentracija ar net visa medžiagų mišinio sudėtis, į kitą analizei patogų signalą. Cheminiai jutikliai dažniausiai susideda iš dviejų pagrindinių dalių: cheminio atpažinimo sistemos (receptoriaus) ir fizikocheminio keitiklio. Biojutikliai yra cheminiai jutikliai, kurių cheminio atpažinimo sistema yra paremta biocheminiu mechanizmu (Thévenot ir kt., 1999; IUPAC, 1997). Biojutikliai gerai tinka sparčiai kiekybinei analizei atlikti ar nuolatiniam medžiagų koncentracijų stebėjimui (Scheller ir Schubert, 1992; Rogers, 2006; Rodriguez-Mozaz ir kt., 2005).

Dažnai biojutiklio atpažinimo sistemoje yra naudojami fermentai. Fermentų savybė katalizuoti tik kažkurią vieną specifinę reakciją užtikrina biojutikliams didelį selektyvumą, o tai, kad fermentai yra labai efektyvūs katalizatoriai, užtikrina didelį biojutiklių jautrumą (Gutfreund, 1995; Scheller ir Schubert, 1992; Eggins, 2002; Giardi ir Piletska, 2006; Marks ir kt., 2007; Looger ir kt., 2003).

Biojutikliai yra pigūs ir patikimi prietaisai, dažnai pakeičiantys brangią ir lėtą kiekybinę analizę laboratorijoje. Jie plačiai naudojami įvairiose srityse: medicinoje, maisto pramonėje, aplinkosaugoje, narkotikų aptikimui (Liang ir kt., 2000; Rogers, 1995; Scheller ir kt., 1997; Yu ir kt., 2005; Rogers, 2006; Tothill, 2001).

Nors biojutikliai yra palyginti pigūs, tačiau jų sukūrimui bei kalibravimui tenka įdėti nemažai pastangų, sunaudoti daug medžiagų. Tam, kad reikėtų atlikti kuo mažiau fizinių eksperimentų, galima pasinaudoti matematinio modeliavimu. Naudojantis matematinio biojutiklio modeliu, galima numatyti biojutiklio savybes dar prieš atliekant eksperimentus laboratorijoje. Tokiu būdu galima smarkiai sumažinti eksperimentų skaičių ir sumažinti naujo biojutiklio kūrimo kaštus.

Biojutiklių matematinius modelius galima aprašyti netiesinėmis diferencialinėmis lygtimis dalinėmis išvestinėmis (Schulmeister, 1990; Baronas

ir kt., 2010; Kulys, 1981). Diferencialines lygtis dažniausiai sudaro tiesinis narys, aprašantis medžiagų difuziją, ir netiesinis narys, aprašantis cheminę kinetiką. Šių lygčių tikslūs analiziniai sprendiniai yra žinomi tik atskirais atvejais, kai biojutiklio struktūra nesudėtinga, o medžiagų koncentracijos yra arba labai mažos, arba labai didelės (Schulmeister, 1990; Baronas ir kt., 2010; Kulys, 1981). Bendruoju atveju šios diferencialinės lygtys yra sprendžiamos skaitiniais metodais, pasitelkus kompiuterį. Šioje disertacijoje diferencialinių lygčių sistemoms spręsti buvo naudojamas baigtinių skirtumų metodas (Samarskii, 2001; Kvedaras ir Sapagovas, 1974; Čiegis, 2003).

Darbo tikslas ir sprendžiami uždaviniai

Šios disertacijos tikslas yra automatizuoti biojutiklių, kuriuose vyksta sudėtingi biokatalizės procesai: inhibicija substratu ir produktu bei substratų sinergija, kompiuterinių modelių kūrimą. Taikant kompiuterinį modeliavimą, ištirti biojutiklių savybes bei elgseną. Disertacijos tikslui įgyvendinti buvo suformuluotos tokios užduotys:

1. Pasiūlyti amperometrinio biojutiklio, kuriame vyksta inhibicija substratu ir produktu, modeliavimo būdą.
2. Pasiūlyti amperometrinio biojutiklio, kuriame vyksta substratų sinergija, modeliavimo būdą.
3. Sukurti apibendrintąjį biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelį, galintį lanksčiai modeliuoti biojutiklio struktūrą.
4. Sukurti universalųjį biojutiklio modelį, galintį modeliuoti plačią biojutiklių aibę. Ši aibė turi apimti biojutiklius su inhibicija substratu ir produktu bei biojutiklius su substratų sinergija. Modelis turi leisti lanksčiai pasirinkti biojutiklio struktūrą bei jame vykstančių cheminių reakcijų kinetiką.
5. Sukurti programinę įrangą, automatizuojančią kompiuterinių modelių kūrimą pagal apibendrintąjį biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu matematinį modelį bei pagal universalųjį biojutiklio matematinį modelį.
6. Naudojant sukurtą programinę įrangą, patvirtinti matematinį modelių adekvatumą, ištirti biojutiklių savybes ir elgseną.

Darbo naujumas ir reikšmė

Sudarytas amperometrinių biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu apibendrintasis modelis, galintis lanksčiai aprašyti biojutiklio struktūrą.

Sudarytas universalusis biojutiklio matematinis modelis, galintis apibrėžti plačią biojutiklių aibę. Ši aibė apima biojutiklius su inhibicija substratu ir produktu, o taip pat biojutiklius su substratų sinergija. Modelis suteikia galimybę apibrėžti plačią cheminių reakcijų aibę ir lanksčiai parinkti biojutiklio struktūrą.

Sukurta programinė įranga, automatizuojanti kompiuterinių modelių kūrimą pagal minėtuosius matematinius modelius.

Taikant sukurtą programinę įrangą, detalai ištirtos biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu savybės ir elgsena. Programine įranga galima lanksčiai parinkti biojutiklio struktūrą, todėl galima atlikti kompiuterinio modeliavimo tyrimus ir tokiems biojutikliams, kurie šioje disertacijoje nebuvo tirti.

Taikant sukurtą programinę įrangą, detalai ištirtos biojutiklio su substratų sinergija savybės ir elgsena. Ištirtas substratų sinergijos efekto biojutiklyje mechanizmas, nustatytos sąlygos, būtinos sinergijos efektui pasireikšti. Programine įranga galima tirti žymiai platesnę biojutiklių aibę nei buvo tirta šioje disertacijoje. Ši aibė apima ne tik biojutiklius su sudėtinga struktūra, bet ir biojutiklius, kuriuose vyksta cheminės reakcijos su sudėtinga reakcijų kinetika.

Naudojant programinę įrangą, galima optimizuoti biojutiklio konfigūraciją dar prieš kuriant fizinį biojutiklį. Remiantis atliktų biojutiklių savybių tyrimų rezultatais, galima kurti efektyvesnius biojutiklius.

Disertacijos rengimo metu gauti rezultatai buvo panaudoti įgyvendinant du mokslinius projektus: „Bioelektrokatalizė sintezėje ir analizėje (BIO-SA)“, finansuotą Lietuvos mokslo tarybos (sutarties Nr. PBT-04/2010), ir „Kompiuterinių metodų, algoritmų ir įrankių efektyviam sudėtingos geometrijos biojutiklių modeliavimui ir optimizavimui sukūrimas“, finansuojamą Europos socialinio fondo lėšomis pagal priemonę „Parama mokslininkų ir kitų tyrėjų mokslinei veiklai (visuotinė dotacija)“ VP1-3.1-ŠMM-07-K (sutarties Nr. VP1-3.1-ŠMM-07-K-01-073/MTDS-110000-583).

Ginamieji teiginiai

1. Sudarytu apibendrintuoju biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modeliu galima lanksčiai aprašyti biojutiklio struktūrą. Sukurta

programine įranga galima atlikti šiuo modeliu aprašomų biojutiklių kompiuterinį modeliavimą.

2. Sudarytu universaliuoju biojutiklio modeliu aprašomų biojutiklių aibė apima tiek biojutiklius su inhibicija substratu ir produktu, tiek biojutiklius su substratų sinergija. Universaliuoju biojutiklio modeliu galima lanksčiai aprašyti biojutiklio struktūrą ir cheminių reakcijų kinetiką. Biojutiklius, patenkančius į modeliu aprašomų biojutiklių aibę, galima modeliuoti, pasitelkiant sukurtą programinę įrangą.
3. Amperometriniame biojutiklyje, kuriame vyksta inhibicija substratu, matuojant tiek stacionariąją, tiek maksimaliąją biojutiklio srovę, galima išmatuoti substrato koncentraciją platesniame koncentracijų intervale nei naudojant tik kažkurią vieną srovę. Tai pat šis koncentracijų intervalas yra platesnis už biojutiklio, kuriame inhibicija substratu nevyksta, darbinių koncentracijų intervalą, jeigu kiti biojutiklio parametrai sutampa.
4. Kompiuterinio modeliavimo būdu galima paaiškinti biojutikliuose pasireiškiančio substratų sinergijos efekto vidinį mechanizmą.

Publikacijų sąrašas

Pagrindiniai tyrimų rezultatai buvo publikuoti trijuose straipsniuose periodiniuose mokslo leidiniuose [1A, 2A, 3A]. [1A] ir [3A] yra publikuoti žurnaluose referuojamuose Thomson Reuters (ISI) duomenų bazėje Web of Science. Dalis mokslinių rezultatų buvo publikuota recenzuojamuose mokslinių konferencijų leidiniuose [4A] ir [5A].

Žodiniai pranešimai mokslinėse konferencijose

1. D. Šimelevičius, R. Baronas. Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. 14th International Conference on Information and Software Technologies: Information Technologies'2008, April 24 - 25, 2008, Kaunas, Lithuania.
2. R. Baronas, D. Šimelevičius. Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. 13th International Conference on Mathematical Modelling and Analysis and 3rd International Conference on Approximation Methods and Orthogonal Expansions, June 4 - 7, 2008, Kääriku, Estonia.

3. D. Šimelevičius. Computational modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. 14th International Conference Mathematical Modelling and Analysis, May 27 - 30, 2009, Daugavpils, Latvia.
4. D. Šimelevičius, R. Baronas. Modelling an amperometric biosensor used for synergistic substrates determination. 15th International Conference Mathematical Modelling and Analysis, May 26 - 29, 2010, Druskininkai, Lithuania.
5. D. Šimelevičius, R. Baronas. Amperometrinių biojutiklių su sinerginių substratų stiprinimu kompiuterinis modeliavimas. Kompiuterininkų dienos - 2011, September 22 - 24, 2011, Klaipėda, Lithuania.
6. D. Simelevicius, R. Baronas. Mechanisms controlling the sensitivity of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. SIMUL 2011: The Third International Conference on Advances in System Simulation, October 23 - 29, 2011, Barcelona, Spain.

Disertacijos struktūra

Disertacija susideda iš keturių skyrių. 1 skyriuje apžvelgiami moksliniai tyrimai matematinio ir skaitinio biojutiklių modeliavimo srityje. Pateikiamas biojutiklių klasifikavimas, apžvelgiami amperometriniame biojutiklyje vykstantys fizikiniai bei cheminiai procesai. 2 skyriuje pristatomi du originalūs biojutiklių modeliai. Modeliuojamas biojutiklis su inhibicija substratu ir produktu, o taip pat biojutiklis su substratų sinergija. 3 skyriuje pateikiamas apibendrintasis biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis, o taip pat universalusis biojutiklio modelis, apimantis tiek biojutiklius su inhibicija substratu ir produktu, tiek biojutiklius su substratų sinergija. Skyriuje pristatyta programinės įrangos, naudotos skaičiavimams atlikti, architektūra. 4 skyriuje pristatomas biojutiklių savybių tyrimas. Biojutikliai tiriami, naudojantis sukurtaisiais biojutiklių modeliais. Biojutiklių modeliavimo uždavinys sprendžiamas skaitiškai, sukurtąja programine įranga.

1 skyrius

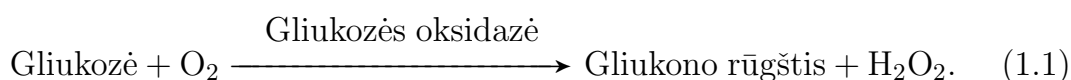
Biojutikliai ir jų modeliavimas

1.1. Biojutikliai

Biojutiklių istorija prasideda nuo to momento, kai 1956 metais L. C. Clark, Jr. pristato membraninį deguonies elektrodą (Clark, 1956). Tai buvo cheminis jutiklis, tinkamas atlikti deguonies koncentracijos matavimus skysčiuose ir dujose. Šiuo metu tokio tipo elektrodai vadinami „Klarko elektrodais“.

1962 metais jau buvo žinomi cheminiai jutikliai, skirti matuoti deguonies, CO₂ koncentracijoms ir tirpalo pH. Tuo metu straipsnyje (Clark ir Lyons, 1962) buvo pasiūlyta kaip, pasitelkiant fermentines membranas ir tuo metu jau sėkmingai naudojamus pH ir deguonies jutiklius, būtų galima išplėsti jutikliais matuojamų medžiagų koncentracijų sąrašą. Minėtame straipsnyje buvo pasiūlyta jutiklių, skirtų matuoti gliukozės ir šlapalo koncentracijoms, koncepcija.

Gliukozės koncentracijai matuoti buvo pasiūlytas toks jutiklio veikimo principas – membranoje esantis fermentas gliukozės oksidazė katalizuoja gliukozės, esančios tirpale, oksidaciją deguonimi:



Tirpale kaupiantis reakcijos produktui – gliukono rūgščiai, mažėja tirpalo pH. pH pasikeitimą galima užregistruoti, naudojantis cheminiu pH jutikliu. Deguonies elektrodą savo ruožtu galima panaudoti reakcijos (1.1) reagento – deguonies koncentracijos sumažėjimui užregistruoti. Iš šių matavimų galima nustatyti gliukozės koncentraciją tirpale (Clark ir Lyons, 1962).

Iki tol gliukozės koncentracija buvo nustatoma į tiriamąjį tirpalą įdėjus gliukozės oksidazės ir deguonies elektrodu stebint deguonies koncentracijos mažėjimą. L. C. Clark, Jr. ir C. Lyons parodė kaip, naudojantis pusiau laidžiomis membranomis, galima pritvirtinti fermento tirpalą prie elektro-

do. Tokiu būdu vieną kartą paruošus fermento tirpalą, galima daug kartų matuoti medžiagos koncentraciją. Laikoma, kad tai ir buvo biojutiklio išradimas (Scheller ir Schubert, 1992).

Šiuolaikinius biojutiklius galima suklasifikuoti pagal receptoriaus tipą ir pagal keitiklio tipą. Pagal receptoriaus tipą biojutikliai skirstomi į dvi pagrindines klases: metabolinius ir afininius biojutiklius.

Metaboliniuose biojutikliuose naudojama biologinė medžiaga katalizuoja tam tikrą cheminę reakciją, kurioje dalyvauja analizuojamos medžiagos molekulės. Analizuojamos medžiagos koncentracija savo ruožtu nustatoma iš šalia keitiklio esančio tirpalo savybių pasikeitimo: reagento koncentracijos sumažėjimo ar produkto koncentracijos padidėjimo (Marks ir kt., 2007).

Metaboliniai biojutikliai skirstomi į tipus pagal naudojamą biologinę medžiagą. Dažniausiai biojutikliuose naudojama biologinė medžiaga yra fermentas, tačiau yra naudojami ir aukštesnio sudėtingumo biokatalizatoriai: bakterijos, ląstelės organelės ar audiniai. Pirmą kartą biojutikliuose vietoje gryno fermento bakterijas panaudojo C. Diviès, etanolio koncentracijos tirpale nustatymui (Diviès, 1975).

Afininiuose biojutikliuose biologinė medžiaga neinicijuoja cheminės reakcijos, bet pati suformuoja kompleksą su tiriamąja medžiaga. Komplexo susidarymas daro įtaką tam tikriems fizikocheminiams pokyčiams, kuriuos galima užfiksuoti su atitinkamu keitikliu. Atlikus matavimą, biojutiklis grąžinamas į pirminę būklę, suskaidant kompleksą (Scheller ir Schubert, 1992).

Pagal keitiklio tipą biojutikliai yra skirstomi į elektrocheminius, optinius, termometrinius, pjezoelektrinius ir kt. Dažniausiai biojutikliuose naudojami elektrocheminiai keitikliai (Marks ir kt., 2007). Pirmasis biojutiklis taip pat naudojo elektrocheminį keitiklį (Clark ir Lyons, 1962). Elektrocheminiai keitikliai savo ruožtu skirstomi į amperometrinius, potenciometrinius, impedimetrinius ir kt. (Marks ir kt., 2007; Scheller ir Schubert, 1992).

Naudojant amperometrinių keitiklių, elektrodo paviršiuje potenciostatinėmis sąlygomis vyksta elektrocheminė reakcija. Remiantis Faradėjaus dėsniumi, matuojant srovės stiprį, galima sužinoti koku greičiu vyksta ši elektrocheminė reakcija. Parinkus tinkamas sąlygas, iš srovės stiprio galima spręsti apie biojutiklio matuojamą medžiagos koncentraciją (Scheller ir Schubert, 1992; Eggins, 2002; Pohanka ir Skládal, 2008). Šioje disertacijoje bus nagrinėjami metabolinių fermentinių biojutiklių, naudojančių amperometrinius keitiklius, modeliai.

1.2. Cheminiai bei fizikiniai procesai biojutikliuose

Biojutiklių veikimas paremtas aibe cheminių bei fizikinių procesų. Trumpai apžvelgsime tuos procesus, kurie yra esminiai biojutiklio veikimo modeliavimui.

1.2.1. Cheminė kinetika

Didžioji dalis cheminių reakcijų biojutiklyje vyksta tirpale. Šiame skirsnyje apžvelgsime homogeninių reakcijų kinetiką.

Reakcijų greitis beveik visada yra priklausomas nuo reakcijos reagentų koncentracijų. Ši priklausomybė yra aprašoma reakcijos greičio lygtimi, kuri dažniausiai paklūsta empiriškai nustatytam Veikiančiųjų masių dėsnii (Denisov ir kt., 2003).

Veikiančiųjų masių dėsnis teigia, kad praskiestuose tirpaluose elementariosios reakcijos greitis yra proporcingas reagentų koncentracijoms, pakeltoms laipsniu, sutampančiu su jų stochiometrijos koeficientu, ir yra nepriklausomas nuo kitų medžiagų koncentracijų ar kitų reakcijų (Connors, 1990). Taigi, turint elementariąją reakciją:



jos greičio lygtis yra:

$$v = k[A][B], \quad (1.3)$$

čia v yra reakcijos greitis, $[A]$ ir $[B]$ yra atitinkamai medžiagų A ir B koncentracijos (toliau tekste medžiagos pavadinimas, apskliaustas laužtiniais skliaustais, taip pat reikš tos medžiagos koncentraciją). k yra proporcingumo koeficientas, vadinamas reakcijos greičio konstanta. Ši konstanta nėra priklausoma nuo reagentų koncentracijų, tačiau gali priklausyti nuo temperatūros ar tirpiklio. Ši konstanta yra specifiška konkrečiai cheminei reakcijai.

Jeigu reakcija yra sudėtinė, reakcijos greičio lygtis nebūtinai turi atitikti stochiometrinę reakcijos lygtį. Tokiu atveju reakcijos greičio lygties pavidalas turi būti nustatomas eksperimentiškai (Connors, 1990).

Sakykime, kad turime tokią sudėtinę reakciją:



čia a , b , c ir d yra atitinkamai medžiagų A, B, C ir D stochiometrijos koeficientai (1.4) cheminės reakcijos lygtyje. Šios reakcijos eksperimentiškai

mustatyta reakcijos greičio lygtis turi tokį pavidalą:

$$v = k[A]^\alpha[B]^\beta. \quad (1.5)$$

čia α yra reakcijos laipsnis pagal reagentą A, o β yra reakcijos laipsnis pagal reagentą B, jų suma ($\alpha + \beta$) yra vadinama reakcijos laipsniu. Kadangi reakcija yra sudėtinė, tai reakcijos laipsniai α ir β pagal atitinkamus reagentus A ir B, nebūtinai turi sutapti su stochiometrijos koeficientais a ir b , kaip elementariųjų reakcijų atveju (Connors, 1990). Yra nemažai reakcijų, kurių reakcijos greičio lygties negalima užrašyti (1.5) pavidalu, tačiau šioje disertacijoje tokios reakcijos nebus nagrinėjamos.

Cheminės reakcijos greitį galima išmatuoti, matuojant reakcijos reagentų ar produktų koncentracijų pokytį. Reakcijos (1.4) greitį galima išreikšti tokiu būdu:

$$v = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d} \frac{d[D]}{dt}. \quad (1.6)$$

Naudojant lygtis (1.5) ir (1.6) galima išreikšti bet kurio reakcijos reagento ar produkto koncentracijos išvestinę pagal laiką:

$$\frac{d[A]}{dt} = -ak[A]^\alpha[B]^\beta, \quad (1.7a)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = -bk[A]^\alpha[B]^\beta, \quad (1.7b)$$

$$\frac{d[C]}{dt} = ck[A]^\alpha[B]^\beta, \quad (1.7c)$$

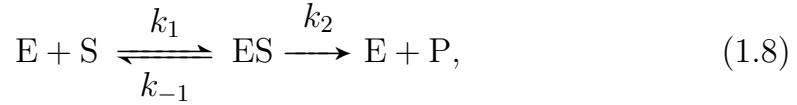
$$\frac{d[D]}{dt} = dk[A]^\alpha[B]^\beta. \quad (1.7d)$$

1.2.2. Fermentų kinetika

Fermentai yra makromolekulės, dažniausiai baltyminės prigimties, kurios veikia kaip katalizatoriai, padidindamos reakcijų greičius. Dažniausiai fermentai katalizuoja tik vieną specifinę reakciją (IUPAC, 1997). Fermentai gali būti labai efektyviais katalizatoriais, padidindami reakcijos greitį net $10^6 - 10^{18}$ kartų (Chang, 2005; Knowles, 1991; Benkovic ir Schiffer, 2003).

Paprasčiausios fermentinės reakcijos vyksta pagal A. J. Brown 1902 metais pasiūlytą reakcijos schemą (Brown, 1902; Kernevez, 1980; Scheller ir

Schubert, 1992; Gutfreund, 1995),



čia E žymi fermentą, S – substratą, ES yra fermento ir substrato kompleksas, P yra reakcijos produktas, k_i yra reakcijos greičio konstantos, $i = -1, 1, 2$.

Analogiškai kaip ir 1.2.1 skirsnyje, galime išreikšti medžiagų koncentracijų išvestines pagal laiką:

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_1[E][S] + k_{-1}[ES], \quad (1.9a)$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E][S] + (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (1.9b)$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES], \quad (1.9c)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES]. \quad (1.9d)$$

Substrato vartimo produktu greitis, žinoma, bus lygus:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]. \quad (1.10)$$

Šio greičio priklausomybę nuo substrato koncentracijos galima patogiai išreikšti pritaikius G. E. Briggs ir J. B. S. Haldane pasiūlytą kvazistacionarumo prielaidą. Ši prielaida teigia, kad prasidėjus reakcijai (1.8), labai greitai nusistovi ES koncentracija, kuri vėliau nekinta (Briggs ir Haldane, 1925):

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0. \quad (1.11)$$

Kad surastume reakcijos greitį, kaip matome iš (1.10), reikia surasti kam lygi ES koncentracija. Iš (1.9d) ir (1.11) gauname:

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]. \quad (1.12)$$

Pažymėkime $[E]_0 = [E] + [ES]$ ir pertvarkykime (1.12) tokiu būdu:

$$\begin{aligned} k_1([E]_0 - [ES])[S] &= (k_{-1} + k_2)[ES], \\ k_1[E]_0[S] - k_1[ES][S] &= (k_{-1} + k_2)[ES], \\ k_1[E]_0[S] &= k_1[ES][S] + (k_{-1} + k_2)[ES], \\ k_1[E]_0[S] &= [ES](k_1[S] + (k_{-1} + k_2)), \\ [ES] &= \frac{k_1[E]_0[S]}{k_1[S] + (k_{-1} + k_2)}, \\ [ES] &= \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}. \end{aligned}$$

Gautą $[ES]$ išraišką įstatykime į (1.10) ir atlikime tokius pakeitimus:

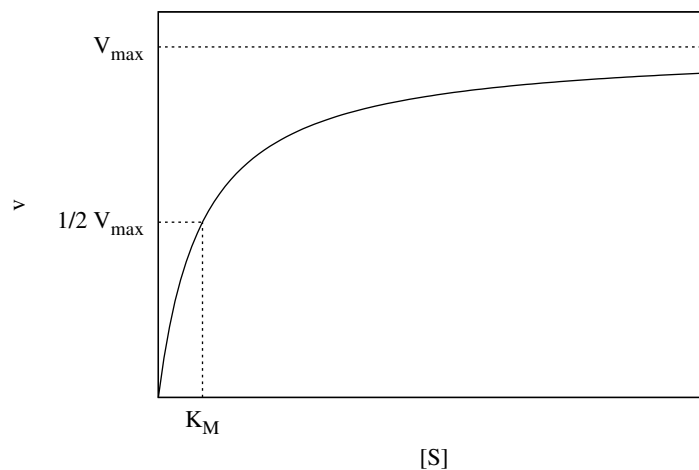
$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad V_{max} = k_2[E]_0. \quad (1.13)$$

Gausime:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}. \quad (1.14)$$

Lygtis (1.14) yra vadinama Michaelio-Menten kinetikos lygtimi pagal klasikinį šių mokslininkų straipsnį (Michaelis ir Menten, 1913). K_M yra vadinama Michaelio konstanta, o V_{max} yra maksimalusis reakcijos greitis (jei visas fermentas būtų susijungęs į kompleksą ES).

Atkreiptinas dėmesys, jog tuo atveju, kai $v = 0,5V_{max}$, galioja lygybė $K_M = [S]$. Ši savybė gali būti naudojama konstantos K_M nustatymui, kaip parodyta 1.1 paveiksle.



1.1 pav. Grafinis Michaelio konstantos K_M nustatymas.

1.2.3. Elektrocheminė kinetika

Elektrochemija yra mokslas, nagrinėjantis sąveiką tarp elektrinių ir cheminių reiškinių (Bard ir kt., 2008). Šioje disertacijoje mums svarbi elektrochemijos mokslo dalis, nagrinėjanti procesus, vykstančius elektrodo ir elektrolitų tirpalo sandūroje.

Bene svarbiausias elektrochemijoje yra Faradėjaus dėsnis, teigiantis, kad medžiagos kiekis, pagamintas ar sunaudotas elektrocheminės reakcijos metu, yra proporcingas elektros krūviui, praėjusiam pro elektrodą (Bard ir kt., 2008):

$$q = nFm, \quad (1.15)$$

čia q yra elektrinis krūvis, m – medžiagos kiekis moliais, n – elektronų, dalyvaujančių elektrocheminėje reakcijoje, skaičius, o $F = 96\,486\text{ C/mol}$ yra Faradėjaus skaičius (konstanta).

Faradėjaus skaičius šiame sąryšyje atlieka proporcingumo koeficiento vaidmenį, kuris reikalingas naudojamų krūvio ir medžiagos kiekio matavimo vienetų suderinimui. Krūvis yra matuojamas kulonais (C) – 1 C yra $6,24 \times 10^{18}$ elektronų, o medžiagos kiekis yra matuojamas moliais (mol) – 1 mol medžiagos sudaro Avogadro skaičius molekulių $N_A = 6,022 \times 10^{23}$. Taigi, pratekęs 96 486 C krūviui, vieno elektrono pernešimo reakcijoje bus sunaudota 1 mol reagento arba pagaminta 1 mol produkto (Bard ir Faulkner, 2001; Damaskin ir kt., 2008).

Faradėjaus dėsnis kiekybiškai susieja elektros krūvį su sunaudotų reagentų ar pagamintų produktų kiekiu, tačiau nieko nesako apie šių procesų greitį.

Imkime vieno elektrono elektrodinį procesą:



Analogiškai kaip ir homogeninės reakcijos atveju, heterogeninės reakcijos greitis yra proporcingas produkto koncentracijai. $C_O(x, t)$ pažymėkime medžiagos O koncentraciją atstumu x nuo elektrodo paviršiaus momentu t , tuomet $C_O(0, t)$ bus medžiagos O koncentracija ant elektrodo paviršiaus. Analogiškai $C_R(0, t)$ bus medžiagos R koncentracija ant elektrodo paviršiaus. Pirminės ir grįžtamosios reakcijų greičius galima išreikšti tokiu būdu:

$$v_p = k_p C_O(0, t), \quad (1.17)$$

$$v_g = k_g C_R(0, t). \quad (1.18)$$

Reakcijos greičio atitikmuo elektriniuose procesuose yra elektros srovės stipris, kadangi jis rodo, koks elektros krūvis praeina per laiko vienetą. Elektros srovės stipris matuojamas amperais (1 A lygu 1 C/s). Taigi, remiantis Faradėjaus dėsnio, elektros srovės stipris turi būti proporcingas elektrocheminės reakcijos greičiui. Elektros srovės stipris taip pat yra proporcingas elektrodo paviršiui (Bard ir Faulkner, 2001; Vetter, 1967; Bockris ir kt., 2002):

$$i_k = FAv_p = Fk_p C_O(0, t), \quad (1.19)$$

$$i_a = FAv_g = Fk_g C_R(0, t), \quad (1.20)$$

čia i_k – katodinė srovė, i_a – anodinė srovė, A – elektrodo paviršiaus plotas.

Kadangi pirminė ir grįžtamoji reakcijos vyksta vienu metu, tai suminės reakcijos greitis lygus:

$$v = v_p - v_g. \quad (1.21)$$

Atitinkamai srovės stipris bus lygus:

$$i = i_k - i_a = FA[k_p C_O(0, t) - k_g C_R(0, t)]. \quad (1.22)$$

Elektrocheminėje kinetikoje greičio konstantos k_p ir k_g yra priklausomos nuo elektrodo potencialo tokiu sąryšiu:

$$k_p = k^0 e^{-\alpha f(E-E^0)}, \quad (1.23)$$

$$k_g = k^0 e^{(1-\alpha)f(E-E^0)}, \quad (1.24)$$

čia k^0 yra standartinė greičio konstanta, α – krūvio pernešimo koeficientas, E – elektrodo potencialas, E^0 – formalusis elektrodo potencialas, o $f = F/RT$, kur F – Faradėjaus skaičius, R – universalioji dujų konstanta, T – absoliutinė temperatūra.

Įrašius šias išraiškas į (1.22), gaunamas srovės-potencialo sąryšis:

$$i = k^0 FA \left[C_O(0, t) e^{-\alpha f(E-E^0)} - C_R(0, t) e^{(1-\alpha)f(E-E^0)} \right]. \quad (1.25)$$

Šis sąryšis vadinamas Butlerio-Volmerio lygtimi (Bard ir Faulkner, 2001; Vetter, 1967; Bockris ir kt., 2002).

Kaip matome iš (1.24), mažinant elektrodo potencialą, k_p reikšmė eksponentiškai auga, ir atvirkščiai, didinant potencialą, k_p eksponentiškai mažėja. Konstantos k_g atveju priklausomybės yra atvirkščios. Taigi, keičiant elektrodo potencialą, galima daryti įtaką reakcijų greičiams v_p , v_g bei srovėms

i_k , i_a . Galima taip parinkti elektrodo potencialą, kad vyktų tik pirminė arba tik grįžtamoji reakcija.

Šioje disertacijoje nagrinėjamuose biojutiklių modeliuose bus daroma prielaida, kad elektrodo potencialas parinktas tokiu būdu, jog elektrocheminė reakcija vyksta tik viena kryptimi, be to, reakcija tokia greita, kad visas elektrocheminės reakcijos reagentas sureaguoja iš karto, vos tik patekęs ant elektrodo paviršiaus.

1.2.4. Difuzijos dėsniai

Difuziją aprašo Fiko dėsniai (Fick, 1855; De la Barrera, 2005). Šie dėsniai yra diferencialinės lygtys, apibrėžiančios medžiagos srautą ir koncentraciją kaip funkcijas nuo erdvės ir laiko. Šioje disertacijoje nagrinėsime difuziją vienmačiam atvejui. $J_O(x, t)$ pažymėkime medžiagos O srautą taške x momentu t . Medžiagos srautas rodo, koks medžiagos kiekis per laiko vienetą praeina per ploto vienetą ($\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Bard ir Faulkner, 2001; Bockris ir Reddy, 2002).

Pirmasis Fiko dėsnis sako, kad medžiagos srautas yra proporcingas koncentracijos gradientui $\partial C_O / \partial x$:

$$-J_O(x, t) = D_O \frac{\partial C_O(x, t)}{\partial x}, \quad (1.26)$$

čia D_O yra medžiagos O difuzijos koeficientas, $C_O(x, t)$ yra medžiagos O koncentracija taške x momentu t . Minuso ženklas rodo, kad difuzija vyksta medžiagos koncentracijos mažėjimo kryptimi (Bard ir kt., 2008; Bockris ir Reddy, 2002).

Antrasis Fiko dėsnis apibrėžia, kaip greitai dėl difuzijos kinta medžiagos koncentracija:

$$\frac{\partial C_O(x, t)}{\partial t} = D_O \frac{\partial^2 C_O(x, t)}{\partial x^2}. \quad (1.27)$$

Medžiaga tirpaluose taip pat gali būti pernešama migracijos bei konvekcijos būdu, tačiau šioje disertacijoje šie medžiagos pernešimo reiškiniai nebus nagrinėjami.

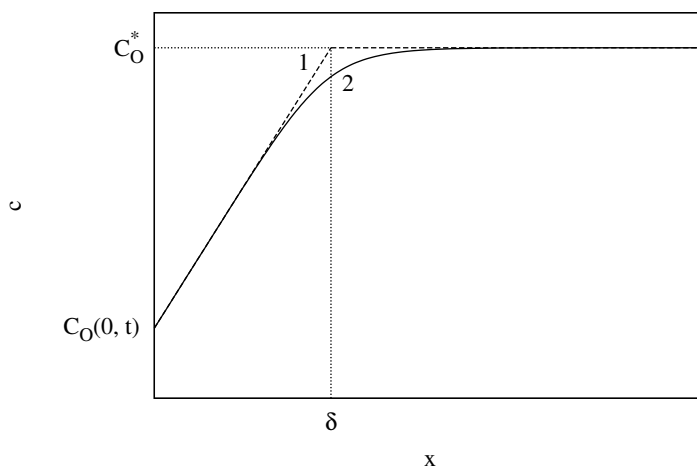
1.2.5. Difuzijos sluoksnio modeliai

Imkime medžiagos O tirpalą. Tegul medžiagos koncentracija tirpale yra C_O^* . Į tirpalą yra įmerkiamas plokščias elektrodas, o paleidus tekėti elektros srovę, vyksta toks elektrocheminis procesas:



Tekant elektros srovei, elektrocheminės reakcijos reagento O koncentracija ant elektrodo paviršiaus ima mažėti. Tam tikrame ploname tirpalo sluoksnyje, esančiame šalia elektrodo, atsiranda koncentracijos gradientas. Riba tarp tirpalo sluoksnio su mažesne koncentracija nei C_O^* ir sluoksnio, kur ši koncentracija išlaikoma, vadinama difuzijos frontu, o tirpalo sluoksnis tarp elektrodo ir difuzijos fronto vadinamas difuzijos sluoksniu. Difuzijos frontas laikui bėgant tolsta nuo elektrodo paviršiaus (Survila, 1989; Bard ir kt., 2008).

Konkrečiu laiko momentu t koncentracijų profilis ties elektrodu atrodo apytiksliai taip, kaip 2 kreivė 1.2 pav. Netoli elektrodo esantis profilis yra tiesė, o artėjant difuzijos fronto link, profilis asimptotiškai artėja prie koncentracijos, esančios tirpale. Ekstrapoliuojant tiesinę profilio dalį, gaunamas apytikslis koncentracijų profilis, kaip pavaizduota 1 kreive 1.2 pav. (Survila, 1989; Bard ir kt., 2008; IUPAC, 1997).



1.2 pav. Koncentracijų profiliai difuzijos sluoksnyje. 1 – pagal Nernsto modelį, 2 – realus profilis. δ yra difuzijos sluoksnio storis pagal Nernsto modelį (Survila, 1989; Bard ir kt., 2008; IUPAC, 1997).

Nernsto difuzijos sluoksnio modelis teigia, kad koncentracijos profilis difuzijos sluoksnyje turi tokį pavidalą, kaip 1 kreivė 1.2 pav. Nernsto modelyje difuzijos frontas tolsta nuo elektrodo tol, kol jį sustabdo natūrali ar dirbtinė konvekcija. Nuo to momento Nernsto difuzijos sluoksnio storis nekinta (Bard ir kt., 2008).

Nors Nernsto modelis yra apytikslis, jis paprastas ir patogus naudoti. Šis modelis plačiai naudojamas elektrocheminėje kinetikoje. Jeigu eksperimente naudojamas besisukantis diskinis elektrodas, tuomet iš tikrųjų susiformuoja difuzijos sluoksnis, labai artimas apibrėžiamam Nernsto modeliu (Survila, 1989).

Pusiau begalinės difuzijos modelis neatsižvelgia į konvekcinius srautus ir teigia, kad difuzijos frontas gali be galo tolti nuo elektrodo paviršiaus (Survila, 1989). Vadinasi, difuzijos sluoksnio storis gali augti iki begalybės. Realiose sistemose taip būti negali dėl konvekcinių srautų šalia elektrodo paviršiaus.

Pusiau begalinės difuzijos modelis naudojamas teoriniuose darbuose, tačiau jeigu modeliuojamo proceso trukmė nėra labai trumpa, labai svarbu atsižvelgti net ir į natūraliąją konvekciją (Bard, 1961; Baronas ir kt., 2000).

1.3. Reakcijos-difuzijos procesų matematinis modeliavimas

Amperometrinių biojutiklių veikimą galima sėkmingai modeliuoti antros eilės netiesinių diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sistemomis (Baronas ir kt., 2010; Schulmeister, 1990). Paprastai pagrindinės tokios lygčių sistemos lygtys yra parabolinio tipo reakcijos-difuzijos lygtys. Vienmačiame modelyje lygtys turi tokį pavidalą:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + K, \quad (1.29)$$

čia u yra medžiagos U koncentracija, t – laikas, x – atstumas, D – medžiagos difuzijos koeficientas, K yra narys, aprašantis cheminę kinetiką.

Pirmoji diferencialinės lygties dalis apibrėžia medžiagos difuziją, remiantis Antruoju Fiko dėsniumi. Antroji lygties dalis apibrėžia cheminę kinetiką. Ši dalis reikalinga, jeigu medžiaga dalyvauja cheminėse reakcijose kaip reagentas ar kaip reakcijų produktas. Priklausomai nuo biojutiklio tipo ir jame vykstančių cheminių reakcijų, cheminė kinetika gali būti apibrėžta remiantis Veikiančiųjų masių dėsniu ar Michaelio-Menten kinetikos lygtimi (Baronas ir kt., 2010; Schulmeister, 1990).

Turint lygčių sistemą, apibrėžiančią biojutiklyje esančių medžiagų koncentracijų dinamiką, formuluojamas mišrusis uždavinys. Uždavinys formuluojamas, apibrėžiant pradines bei kraštines sąlygas.

Pradinėmis sąlygomis apibrėžiamos medžiagų koncentracijos nagrinėjamų sričių viduje bei kraštuose pradiniu laiko momentu:

$$u(x, 0) = const, \quad x \in \Omega, \quad (1.30a)$$

$$u(x, 0) = const, \quad x \in \Gamma, \quad (1.30b)$$

čia Ω yra nagrinėjamos srities vidus, Γ – nagrinėjamos srities kraštas (Bard ir Faulkner, 2001; Bockris ir Reddy, 2002).

Kraštinės sąlygos apibrėžia medžiagų koncentracijas sričių kraštuose biojutiklio veikimo metu. Jos gali būti kelių tipų ir priklauso nuo srities krašto bei medžiagos elgesio ant šio krašto.

Paprasčiausia kraštinė sąlyga teigia, kad medžiagos koncentracija ant srities krašto yra pastovi ir laikui bėgant nekinta:

$$u|_{\Gamma} = \text{const.} \quad (1.31)$$

Tokia sąlyga gali būti formuluojama srities krašte su tirpalu, kuriame medžiagos koncentracija išlaikoma pastovi. Taip pat tokia sąlyga gali būti formuluojama srities krašte, besiribojančiame su elektrodo paviršiumi, jeigu laikoma, kad nagrinėjamoji medžiaga pilnai sureaguoja vos pasiekusi elektrodo paviršių (tokiu atveju $\text{const} = 0$) (Baronas ir kt., 2010; Schulmeister, 1990).

Ant srities krašto, besiribojančio su elektrodo, gali prireikti ir kitokios sąlygos. Vykstant elektrocheminei reakcijai, reakcijos produkto srautas turi būti lygus reagento srautui, tik priešinga kryptimi. Tuomet, remiantis Pirmuoju Fiko dėsniumi, formuluojama tokio pavidalo kraštinė sąlyga:

$$D_{U_1} \frac{\partial u_1}{\partial x} \Big|_{\Gamma} = -D_{U_2} \frac{\partial u_2}{\partial x} \Big|_{\Gamma}, \quad (1.32)$$

čia u_1 ir u_2 yra atitinkamai medžiagų U_1 ir U_2 koncentracijos, D_{U_1} ir D_{U_2} yra medžiagų U_1 ir U_2 difuzijos koeficientai nagrinėjamos srities terpėje (Bard ir Faulkner, 2001; Baronas ir kt., 2010, 2004c).

Elektrodo atžvilgiu neutralioms medžiagoms ant srities krašto, besiribojančio su elektrodo paviršiumi, turi būti taikomos nepratekėjimo sąlygos (Baronas ir kt., 2010; Schulmeister, 1990):

$$\frac{\partial u}{\partial x} \Big|_{\Gamma} = 0. \quad (1.33)$$

Jeigu biojutiklio matematinis modelis aprašo kelias biojutiklio sritis su skirtingomis fizinėmis savybėmis ir jose vyksta skirtingos cheminės reakcijos, tuomet kiekvienai iš sričių reikia suformuluoti pagrindinių lygčių sistemą iš (1.29) pavidalo lygčių, o sričių sandūrose turi būti apibrėžtos derinimo sąlygos:

$$D_1 \frac{\partial u}{\partial x} \Big|_{\Gamma_1} = D_2 \frac{\partial u}{\partial x} \Big|_{\Gamma_2}, \quad u|_{\Gamma_1} = u|_{\Gamma_2}, \quad (1.34)$$

čia D_1 ir D_2 yra medžiagos U difuzijos koeficientai atitinkamai pirmosios

ir antrosios srities terpėse, Γ_1 ir Γ_2 yra atitinkamai pirmosios ir antrosios srities kraštai. Šios derinimo sąlygos teigia, kad medžiagos srautas vienoje iš besiribojančių sričių yra lygus medžiagos srautui kitoje srityje.

Tuo atveju, kai laikoma, jog elektrocheminė reakcija ant elektrodo paviršiaus vyksta greitai ir visas reagentas, pasiekęs elektrodo paviršių, sureaguoja, srovės tankiui apskaičiuoti nereikalinga Butlerio-Volmerio lygtis, pakanka pasinaudoti Faradėjaus bei Pirmuoju Fiko dėsniumi (Bard ir Faulkner, 2001; Survila, 1989):

$$j = n_e F D \left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{\Gamma}, \quad (1.35)$$

čia j yra srovės tankis, n_e – elektrocheminės reakcijos metu pernešamų elektronų skaičius, D – reagento difuzijos koeficientas srities, besiribojančios su elektrodu, terpėje, Γ yra elektrodo paviršius.

Atliekant eksperimentą, biojutiklio generuojama srovė kinta, kol nėra pasiekama stacionarioji srovė. Nusistovėjusi srovė rodo, kad biojutiklyje vykstantys procesai pasiekė pusiausvyros būseną. Biojutiklio stacionarioji srovė gali būti naudojama kaip biojutiklio atsakas, pagal kurį nustatoma substrato koncentracija tirpale. Stacionariosios srovės tankis apibrėžiamas:

$$j_{st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t). \quad (1.36)$$

Jeigu reikia apskaičiuoti srovės stiprį, tuomet srovės tankis yra padauginamas iš elektrodo paviršiaus ploto:

$$i = jA, \quad (1.37)$$

čia i – srovės stipris, A – elektrodo paviršiaus plotas.

1.4. Skaitinis modeliavimas

Biojutiklio veikimą modeliuojančių diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sistemą išspręsti analiziškai pavyksta retai. Pagrindinis trukdis yra tai, kad cheminę kinetiką aprašantis narys dažnai yra netiesinis. Tik tam tikrais atvejais kinetikos narį pavyksta pertvarkyti į tiesinį (Baronas ir kt., 2010).

Vienas iš tokių atvejų, kai biojutiklyje vykstančių cheminių reakcijų kinetika yra aprašoma Michaelio-Menten kinetikos lygtimi, o substrato kon-

centracija tirpale C_S^* yra maža, lyginant su Michaelio konstanta K_M :

$$\forall x, t : x \in \Omega \cup \Gamma, t > 0 : 0 \leq C_S(x, t) \leq C_S^* \ll K_M, \quad (1.38)$$

čia Ω yra modeliuojamos srities vidus, Γ – modeliuojamos srities kraštas, $C_S(x, t)$ – substrato S koncentracija. Tuomet netiesinę reakcijos greičio funkciją galima supaprastinti iki tiesinės (Baronas ir kt., 2010):

$$v = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_M} \approx \frac{V_{max}[S]}{K_M}. \quad (1.39)$$

Norint išspręsti biojutiklio modeliavimo uždavinį bendruoju atveju, pasitelkiami skaitiniai metodai (Mell ir Maloy, 1975). Vienas iš plačiausiai naudojamų skaitinių metodų, tinkančių diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sistemoms spręsti, yra baigtinių skirtumų metodas (Strikwerda, 2004; Samarskii, 2001; Kvedaras ir Sapagovas, 1974; Čiegis, 2003).

Sprendžiant biojutiklio modeliavimo uždavinį baigtinių skirtumų metodu, pirmiausia sudarytoji diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis sistema turi būti perdaryta į skirtuminių lygčių sistemą. Skirtuminių lygčių sistema savo ruožtu yra sprendžiama pasitelkus programinę įrangą (Press ir kt., 2007).

Nagrinėjime vienmatį, vienasluoksni biojutiklio matematinį modelį. Kintamieji x ir t yra apibrėžiami srityje $\Omega = \{0 \leq x \leq d, 0 \leq t \leq T\}$. Kintamųjų tolydinio kitimo sritis Ω yra keičiama diskretine taškų aibe $\bar{\Omega}_h$. Vienas iš paprasčiausių ir dažniausiai naudojamų diskretinės srities sudarymo būdų – imti dvi besikertančių tiesių šeimas (Kvedaras ir Sapagovas, 1974):

$$\begin{aligned} x &= ih, \quad i = 0, 1, \dots, N, \quad N = \frac{d}{h}, \\ t &= j\tau, \quad j = 0, 1, \dots, M, \quad M = \frac{T}{\tau}. \end{aligned}$$

Šiomis tiesėmis sritis Ω padalinama į stačiakampius. Tiesių visuma yra vadinama tinklu, o tiesių sankirtos vadinamos tinklo mazgais. h ir τ yra vadinami tinklo žingsniais, h yra žingsnis pagal erdvę, τ – žingsnis pagal laiką. Tinklo mazgai ir sudaro diskretinę taškų aibę $\bar{\Omega}_h$ (Kvedaras ir Sapagovas, 1974).

Tinklo mazgų (i, j) , kai $i = 1, 2, \dots, N - 1; j = 1, 2, \dots, M$, visumą vadinsime vidine tinkline sritimi Ω_h , o likusius tinklo mazgus – kontūrines sritis Γ_h . Kiekvienam srities Ω_h mazgui turi būti sudarytos skirtuminės lygtys, atitinkančios pagrindines modelio lygtis, o kontūriniam taškams

turi būti sudarytos skirtuminės lygtys pagal pradines ir kraštines sąlygas.

Antroji išvestinė pagal erdvę keičiama tokiu skirtumu:

$$\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} \approx \frac{u_{i+1,j} - 2u_{ij} + u_{i-1,j}}{h^2}. \quad (1.40)$$

Pirmoji išvestinė pagal erdvę šioje disertacijoje nagrinėjamuose biojunktiklio modeliuose pasitaikys tik kraštinėse sąlygose ir apibrėš išvestines ant srities krašto, todėl tai bus arba kairioji, arba dešinioji išvestinės, kurios bus keičiamos skirtumais tokiu būdu:

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{x=x_i^-} \approx \frac{u_{ij} - u_{i-1,j}}{h}, \quad (1.41a)$$

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{x=x_i^+} \approx \frac{u_{i+1,j} - u_{ij}}{h}. \quad (1.41b)$$

čia $x_i = ih$.

Pirmoji išvestinė pagal laiką gali būti keičiama tokiais skirtumais:

$$\frac{\partial u}{\partial t} \approx \frac{u_{i,j+1} - u_{ij}}{l}, \quad (1.42a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} \approx \frac{u_{ij} - u_{i,j-1}}{l}. \quad (1.42b)$$

Kuris skirtumas turi būti naudojamas, nulemia skirtuminės schemas tipas. Skirtumas (1.42a) naudojamas tuo atveju, kai naudojama išreikštinė schema. Tuo tarpu skirtumas (1.42b) naudojamas, esant neišreikštinei schemei.

Išreikštinė schema pasižymi tuo, kad skirtuminėje lygtyje esantys taškai išsidėstę tokiu būdu, jog viršutinėje eilutėje yra tik vienas taškas. Taigi šią funkcijos reikšmę galima tiesiogiai išreikšti, naudojant reikšmes ankstesnės eilutės taškuose. Pagal tokiu būdu išreikštą formulę apskaičiuojamos funkcijų reikšmės einamosios eilutės vidiniuose taškuose, o kontūriniuose taškuose reikšmės apskaičiuojamos pagal kraštines sąlygas, kuriose nėra išvestinių pagal laiką. Tuomet pereinama į kitą eilutę ir tokios iteracijos kartojamos tol, kol apskaičiuojamos funkcijų reikšmės visuose tinklo mazguose.

Išreikštinės schemas skaičiavimo algoritmas lengvai įgyvendinamas programavimo kalba, o kiekvienos iteracijos pagal laiką metu atliekama palyginus mažai operacijų, tačiau tam, kad išreikštinė schema būtų galima naudotis, turi būti tenkinama stabilumo sąlyga. (1.29) lygčiai būtinoji stabilumo

sąlyga atrodo taip (Samarskii, 2001):

$$\tau \leq \frac{h^2}{2D}. \quad (1.43)$$

Ši sąlyga turi būti tenkinama kiekvienai lygčių sistemos lygčiai. Siekiant užtikrinti schemos stabilumą, gali tekti imti labai mažą žingsnį pagal laiką, taip sulėtinant uždavinio sprendimą.

Neišreikštinės schemos atveju viršutinėje eilutėje yra daugiau nei vienas taškas ir šių reikšmių tiesiogiai apskaičiuoti negalima (Kvedaras ir Sapagovas, 1974; Samarskii, 2001). Sprendžiant uždavinį pagal neišreikštinę schemą, iš skirtuminių lygčių, sudarytų einamosios eilutės mazgams, sudaroma lygčių sistema, o ją išsprendus gaunamos funkcijų reikšmės. Kadangi (1.29) tipo lygtyse yra netiesinis narys K , aprašantis cheminę kinetiką, gaunama netiesinių lygčių sistema. Tam, kad lygčių sistemą spręsti būtų paprasčiau, cheminės kinetikos narys yra apskaičiuojamas, naudojant funkcijų reikšmes iš ankstesnės eilutės. Taip netiesinių lygčių sistema pavirsta į tiesinių lygčių sistemą su trijstrižaine matrica, kuriai spręsti yra sukurta efektyvių algoritmų (Samarskii, 2001; Kvedaras ir Sapagovas, 1974).

1.5. Inhibicijos bei sinergijos procesų biojutikliuose modeliavimas

Nuo XXa. 8 dešimtmečio buvo sukurta nemažai matematinių modelių konkretiems biojutikliams, siekiant ištirti ar optimizuoti jų veikimą (Mell ir Maloy, 1975; Kernevez, 1980; Bartlett ir Whitaker, 1987). Amperometrinių biojutiklių matematinis modeliavimas yra išsamiai nagrinėjamas apžvalgoje (Schulmeister, 1990) bei knygoje (Baronas ir kt., 2010). Konkrečių biojutiklių su inhibicija substratu, o taip pat ir su inhibicija produktu veikimui paaikškinti buvo sukurti matematiniai modeliai. Dažniausiai tokie modeliai buvo skirti biojutiklio veikimui stacionariomis sąlygomis modeliuoti (Merič ir kt., 2002; Mirón ir kt., 2004; Mösche ir Jördening, 1999; van Niel ir kt., 2002; Shen ir Larter, 1994; Shinto ir kt., 2007). Taip pat buvo sukurti amperometrinių biojutiklių su inhibicija substratu, atsižvelgiančių į difuzijos sluoksnį, matematiniai modeliai, modeliuojantys biojutiklio veikimą stacionariomis (Kulys, 2006) ir nestacionariomis (Kulys ir Baronas, 2006) sąlygomis.

Šiuose straipsniuose modeliuotuose biojutikliuose fermentinė katalizė vyko pagal schemą (1.8), tačiau lygiagrečiai vyko ir inhibicijos substratu

procesas:



Dėl inhibicijos proceso Michaelio-Menten kinetikos lygtis netiko cheminei kinetikai aprašyti, todėl buvo naudojama tokia cheminės kinetikos lygtis:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S] + [S]^2/K_s}, \quad (1.45)$$

čia $K_s = k_{-3}/k_3$ yra inhibicijos substratu konstanta.

Prieš kuri laiką buvo sukurti amperometrinių biojutiklių, kuriuose stebima substratų sinergija, matematiniai modeliai stacionarioms sąlygoms (Kulys, 2005; Kulys ir Dapkūnas, 2007). Prieš dvejus metus buvo sukurtas lakazės biojutiklio, kuriame pasireiškia substratų sinergija, matematinis modelis. Biojutiklio veikimas buvo simuliuotas skaitiškai ir tirtas jo veikimas stacionariomis bei nestacionariomis sąlygomis (Gaidamauskaitė ir kt., 2011).

Sinergetiniuose biojutikliuose fermentinė katalizė vyksta pagal sudėtingesnę reakcijų schemą ir Michaelio-Menten kinetikos lygtis jiems netinka. Cheminių reakcijų kinetika yra aprašoma, naudojant Veikiančiųjų masių dėsnį (Kulys, 2005).

1.6. Apibendrinimas

Šiais laikais yra sukurta daug skirtingų tipų biojutiklių, veikiančių skirtingais principais. Biojutikliai klasifikuojami pagal substrato atpažinimo būdą, naudojamą biologinę medžiagą ir keitiklio tipą. Svarbiausi procesai, vykstantys fermentiniame amperometriniame biojutiklyje, yra cheminės reakcijos ir medžiagų difuzija. Cheminė kinetika biojutiklių modeliuose gali būti apibrėžiama, naudojant Veikiančiųjų masių dėsnį arba Michaelio-Menten kinetikos lygtį ir jos variacijas, o medžiagų difuzija yra apibrėžiama naudojantis Fiko dėsniais. Tam, kad biojutiklio modelis būtų tikslesnis, reikia atsižvelgti į difuzijos sluoksnį. Nernsto difuzijos sluoksnio modelis atsižvelgia į natūralią arba dirbtinę konvekciją. Dažniausiai biojutiklio modelis yra sudarytas iš reakcijos-difuzijos tipo diferencialinių lygčių dalinėmis išvestinėmis. Dėl lygčių netiesiškumo analiziniai sprendiniai žinomi tik atskiriems atvejams, todėl uždavinys dažniausiai sprendžiamas pasitelkus skaitinius metodus.

Yra sukurti biojutiklio su inhibicija substratu modeliai tiek staciona-

rioms, tiek nestacionarioms sąlygoms. Taip pat yra sukurta ir biojutiklio su inhibicija produktu modelių. Šioje disertacijoje yra pasiūlytas originalus apibendrintasis biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis, kuriuo galima tirti biojutiklio veikimą nestacionariomis sąlygomis. Taip pat šiuo modeliu galima lanksčiai apibrėžti biojutiklio struktūrą.

Susijusiuose moksliniuose darbuose yra pasiūlytas biojutiklio modelis, apimantis ir šioje disertacijoje modeliuojamą biojutiklį su substratų sinergija, tačiau šioje disertacijoje pasiūlytu universaliuoju biojutiklio modeliu galima lanksčiau aprašyti cheminę kinetiką, nurodant reakcijos laipsnį pagal kiekvieną reakcijos reagentą individualiai, taip išplečiant modeliuojamųjų biojutiklių aibę.

2 skyrius

Biojutiklių, veikiančių sudėtingų biokatalizės procesų pagrindu, matematiniai modeliai

Šiame skyriuje yra pristatomi du originalūs biojutiklių matematiniai modeliai: biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis ir biojutiklio su substratų sinergija modelis, paremtas gliukozės oksidazės biojutikliu.

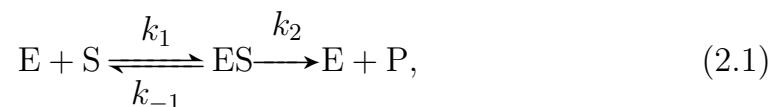
Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis buvo publikuotas straipsnyje periodiniame leidinyje [1A] ir recenzuojamuose konferencijų leidiniuose [4A] ir [5A].

Biojutiklio su substratų sinergija modelis buvo publikuotas dviejuose straipsniuose periodiniuose leidiniuose [2A] ir [3A].

2.1. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu matematinis modelis

2.1.1. Cheminės reakcijos biojutiklyje

Paprastai biokatalizė biojutikliuose veikia pagal tokią schemą (Kernevez, 1980; Scheller ir Schubert, 1992; Gutfreund, 1995):



čia E žymi fermentą, S – substratą, ES yra fermento ir substrato kompleksas, o P yra reakcijos produktas, k_i yra reakcijos greičio konstantos, $i = -1, 1, 2$. Šio tipo reakcijų kinetika gali būti aprašyta Michaelio-Menten lygtimi, tačiau labai dažnai fermento katalizuojamos reakcijos yra žymiai sudėtingesnės. Lygiagrečiai reakcijoms (2.1) gali vykti inhibicijos, aktyvacijos, alosterijos ir kiti procesai, išeinantys už Michaelio-Menten kinetikos

ribų (Chaubey ir Malhotra, 2002; Cornish-Bowden, 2004; NC-IUB, 1983; Baronas ir kt., 2004a; Kulys, 2006; Ochs, 2000).

Inhibicija yra procesas, kai tam tikra medžiaga (inhibitorius) sumažina cheminės reakcijos greitį (NC-IUB, 1983). Fermento katalizuojamose reakcijose inhibitoriai dažniausiai veikia prisijungdami prie fermento. Tirsime atvejį, kai fermento-substrato kompleksas ES jungiasi su dar viena substrato molekule, suformuodamas neaktyvų kompleksą ESS. Šį procesą vadinsime inhibicija substratu:



Taip pat fermento molekulės jungiasi su produkto molekulėmis ir gamina dar vieną neaktyvų kompleksą EP. Šį procesą vadinsime inhibicija produktu:



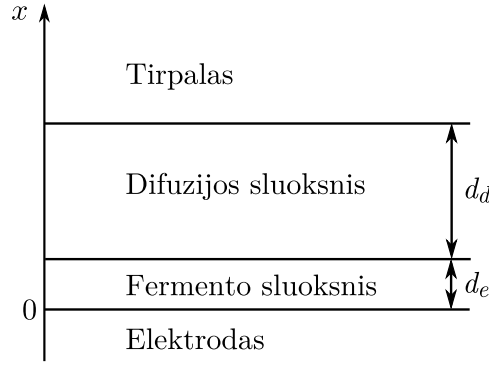
Gaminant biojutiklį, labai svarbu suprasti jo kinetikos subtilybes. Tam, kad būtų galima padidinti biojutiklio kūrimo efektyvumą, reikia sudaryti matematinį biojutiklio modelį (Reyes De Corcuera ir kt., 2004; Ferreira ir kt., 2003; Stamatina ir kt., 2006; Wu ir kt., 2004).

2.1.2. Biojutiklio struktūra

Šiame modelyje biojutiklis laikomas plokščiu elektrodu, ant kurio paviršiaus pritvirtintas santykinai plonas fermento sluoksnis (fermento membrana). Modeliuojamos trys sritys, kaip parodyta 2.1 pav.: fermento sluoksnis, kuriame vyksta fermentinės reakcijos ir medžiagų pernešimas difuzijos būdu, difuzijos sluoksnis, kuriame vyksta tik medžiagų difuzija, bei tirpalo sritis, kurioje išlaikoma pastovi visų medžiagų koncentracija. Laikoma, kad elektrodas ir fermento bei difuzijos sluoksniai yra simetriški, fermentas yra pasiskirstęs homogeniškai. Šių prielaidų dėka galima sudaryti vienmatį matematinį modelį (Schulmeister, 1990; Baronas ir kt., 2010).

2.1.3. Pagrindinės lygtys

Fermento sluoksnyje vykstančias reakcijas aprašome naudodamiesi Veikiančiųjų masių dėsnium, o medžiagų difuziją aprašome naudodamiesi Antruo-



2.1 pav. Biojutiklio struktūra.

ju Fiko dėsnium. Gauname tokias reakcijos-difuzijos tipo lygtis ($t > 0$):

$$\frac{\partial s_e}{\partial t} = D_{s_e} \frac{\partial^2 s_e}{\partial x^2} - k_1 e_e s_e + k_{-1} e_{es} - k_3 e_{es} s_e + k_{-3} e_{ess}, \quad (2.4a)$$

$$\frac{\partial p_e}{\partial t} = D_{p_e} \frac{\partial^2 p_e}{\partial x^2} + k_2 e_{es} - k_4 e_e p_e + k_{-4} e_{ep}, \quad (2.4b)$$

$$\frac{\partial e_e}{\partial t} = -k_1 e_e s_e + k_{-1} e_{es} + k_2 e_{es} - k_4 e_e p_e + k_{-4} e_{ep}, \quad (2.4c)$$

$$\frac{\partial e_{es}}{\partial t} = k_1 e_e s_e - k_{-1} e_{es} - k_2 e_{es} - k_3 e_{es} s_e + k_{-3} e_{ess}, \quad (2.4d)$$

$$\frac{\partial e_{ess}}{\partial t} = k_3 e_{es} s_e - k_{-3} e_{ess}, \quad (2.4e)$$

$$\frac{\partial e_{ep}}{\partial t} = k_4 e_e p_e - k_{-4} e_{ep}, \quad 0 < x < d_e, \quad (2.4f)$$

čia x yra erdvės koordinatė, t yra laikas, $s_e(x, t)$, $p_e(x, t)$, $e_e(x, t)$, $e_{es}(x, t)$, $e_{ess}(x, t)$ ir $e_{ep}(x, t)$ yra atitinkamų medžiagų koncentracijos, eilės tvarka substrato S, produkto P, fermento E, kompleksų ES, ESS ir EP, d_e yra fermento sluoksnio storis, D_{s_e} ir D_{p_e} yra atitinkamai substrato ir produkto difuzijos koeficientai fermento sluoksnyje. Fermento bei su fermentu sudarytų kompleksų ES, ESS ir EP molekulės yra imobilizuotos, todėl atitinkamose lygtyse nėra difuzijos narių.

Difuzijos sluoksnyje vyksta tik medžiagų pernešimas difuzijos būdu. Difuzijos sluoksnį modeliuojame remdamiesi Nernsto difuzijos sluoksnio modeliu ($t > 0$):

$$\frac{\partial s_d}{\partial t} = D_{s_d} \frac{\partial^2 s_d}{\partial x^2}, \quad (2.5a)$$

$$\frac{\partial p_d}{\partial t} = D_{p_d} \frac{\partial^2 p_d}{\partial x^2}, \quad d_e < x < d_e + d_d, \quad (2.5b)$$

čia $s_d(x, t)$ ir $p_d(x, t)$ yra atitinkamai substrato ir produkto koncentraci-

jos difuzijos sluoksnyje, d_d yra difuzijos sluoksnio storis, D_{s_d} ir D_{p_d} yra substrato ir produkto difuzijos koeficientai difuzijos sluoksnyje.

2.1.4. Pradinės ir kraštinės sąlygos

Laikykime, kad $x = 0$ atitinka elektrodo paviršių, tuomet $x = d_e$ atitinka fermento ir difuzijos sluoksnių sandūrą, o $x = d_e + d_d$ atitinka difuzijos sluoksnio kraštą, besiribojantį su pastovios koncentracijos tirpalo sritimi. Biojutiklis pradeda veikti, kai tirpale atsiranda substrato molekulių ($t = 0$):

$$s_e(x, 0) = 0, \quad p_e(x, 0) = 0, \quad 0 \leq x \leq d_e, \quad (2.6a)$$

$$s_d(x, 0) = 0, \quad p_d(x, 0) = 0, \quad d_e \leq x < d_e + d_d, \quad (2.6b)$$

$$s_d(d_e + d_d, 0) = s_0, \quad p_d(d_e + d_d, 0) = 0, \quad (2.6c)$$

$$e_e(x, 0) = e_0, \quad e_{es}(x, 0) = 0, \quad 0 < x < d_e, \quad (2.6d)$$

$$e_{ess}(x, 0) = 0, \quad e_p(x, 0) = 0, \quad 0 < x < d_e, \quad (2.6e)$$

čia s_0 yra substrato koncentracija tirpale, e_0 yra pradinė fermento koncentracija.

Laikome, kad parinktas toks elektrodo potencialas, jog visos reakcijos produkto molekulės negrįžtamai sureaguoja ant elektrodo paviršiaus ($x = 0$, $t > 0$) (Schulmeister, 1990):

$$p_e(0, t) = 0. \quad (2.7)$$

Substrato molekulės nedalyvauja jokiaje elektrocheminėje reakcijoje ant elektrodo paviršiaus, todėl ties elektrodo paviršiumi substrato srautas yra lygus nuliui (taikoma nepratekėjimo sąlyga) ($t > 0$):

$$D_{s_e} \frac{\partial s_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0. \quad (2.8)$$

Difuzijos sluoksnį ($d_e < x < d_e + d_d$) modeliuojame pagal Nernsto difuzijos sluoksnio modelį (Britz, 2005). Remiantis Nernsto modeliu, laikoma, kad tam tikru atstumu nuo elektrodo paviršiaus $x = d_e + d_d$, medžiagos koncentracija eksperimento vykdymo metu nekis. Šiame biojutiklio modelyje paprastumo dėlei laikysime, kad tiek substratui S , tiek produktui P šis

atstumas yra vienodas ($t > 0$):

$$s_d(d_e + d_d, t) = s_0, \quad (2.9a)$$

$$p_d(d_e + d_d, t) = 0. \quad (2.9b)$$

Dviejų sričių, kuriose medžiagos turi skirtingus difuzijos koeficientus, sandūroje reikalingos derinimo sąlygos ($t > 0$):

$$D_{s_e} \frac{\partial s_e}{\partial x} \Big|_{x=d_e} = D_{s_d} \frac{\partial s_d}{\partial x} \Big|_{x=d_e}, \quad s_e(d_e, t) = s_d(d_e, t), \quad (2.10a)$$

$$D_{p_e} \frac{\partial p_e}{\partial x} \Big|_{x=d_e} = D_{p_d} \frac{\partial p_d}{\partial x} \Big|_{x=d_e}, \quad p_e(d_e, t) = p_d(d_e, t). \quad (2.10b)$$

Šios sąlygos apibrėžia, kad medžiagų srautai, išeinantys iš difuzijos sluoksnio, lygūs medžiagų srautams, įeinantiems į fermento sluoksnį, o substrato bei produkto koncentracijos šių sričių sandūroje yra lygios.

2.1.5. Kvazistacionarumo prielaida

Kai kurios reakcijos reakcijų scheme (2.1)-(2.3) yra labai greitos, lyginant su kitų reakcijų greičiu (Scheller ir Schubert, 1992; Turner ir kt., 1987). Didelis greičių skirtumas reakcijų scheme sukelia sunkumų skaitiškai modeliuojant sistemą ir nagrinėjant jos veikimą. Dažnai tokiose situacijose naudojama kvazistacionarumo prielaida (Li ir kt., 2008; Segel ir Slemrod, 1989). Kvazistacionarumo prielaida teigia, kad fermento ir su juo sudarytų kompleksų koncentracijos laikui bėgant nekinta:

$$\frac{\partial e_e}{\partial t} \approx \frac{\partial e_{es}}{\partial t} \approx \frac{\partial e_{ess}}{\partial t} \approx \frac{\partial e_{ep}}{\partial t} \approx 0. \quad (2.11)$$

Aišku, kad padarius tokią prielaidą lygtys (2.4a) ir (2.4b) smarkiai supaprastėja, o lygčių (2.4c) - (2.4f) apskritai nelieka:

$$\frac{\partial s_e}{\partial t} = D_{s_e} \frac{\partial^2 s_e}{\partial x^2} - k_2 e_{es}, \quad (2.12a)$$

$$\frac{\partial p_e}{\partial t} = D_{p_e} \frac{\partial^2 p_e}{\partial x^2} + k_2 e_{es}, \quad 0 < x < d_e. \quad (2.12b)$$

Laikoma, kad visų fermento formų koncentracijų suma yra lygi e_0 bet kuriame fermento sluoksnio taške ir laikui bėgant nekinta ($e_0 = e_e + e_{es} +$

$e_{ess} + e_{ep}$). e_{es} galima išreikšti per s_e , p_e ir e_0 . Tam tikslui iš lygčių (2.4c) - (2.4f), kvazistacionarumo prielaidos (2.11) ir e_0 apibrėžimo sudarykime lygčių sistemą:

$$0 = -k_1 e_e s_e + k_{-1} e_{es} + k_2 e_{es} - k_4 e_e p_e + k_{-4} e_{ep}, \quad (2.13a)$$

$$0 = k_1 e_e s_e - k_{-1} e_{es} - k_2 e_{es} - k_3 e_{es} s_e + k_{-3} e_{ess}, \quad (2.13b)$$

$$0 = k_3 e_{es} s_e - k_{-3} e_{ess}, \quad (2.13c)$$

$$0 = k_4 e_e p_e - k_{-4} e_{ep}, \quad (2.13d)$$

$$e_0 = e_e + e_{es} + e_{ess} + e_{ep}. \quad (2.13e)$$

Naudodamiesi lygtimi (2.13c), suprastinkime lygtį (2.13b):

$$0 = k_1 e_e s_e - k_{-1} e_{es} - k_2 e_{es}.$$

Iš čia išreiškime e_e :

$$e_e = \frac{(k_{-1} + k_2) e_{es}}{k_1 s_e},$$

o pažymėję $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$, gauname:

$$e_e = \frac{K_M e_{es}}{s_e}, \quad (2.14)$$

čia K_M yra Michaelio konstanta.

Išraišką (2.14) įstatykime į lygtį (2.13d) ir išreiškime e_{ep} :

$$e_{ep} = \frac{k_4 K_M e_{es} p_e}{k_{-4} s_e},$$

o pažymėję $K_p = k_{-4}/k_4$, gauname:

$$e_{ep} = \frac{K_M e_{es} p_e}{K_p s_e}, \quad (2.15)$$

K_p vadinsime inhibicijos produkto konstanta.

Iš (2.13c) išreiškime e_{ess} :

$$e_{ess} = \frac{k_3 e_{es} s_e}{k_{-3}},$$

o pažymėję $K_s = k_{-3}/k_3$, gauname:

$$e_{ess} = \frac{e_{es} s_e}{K_s}, \quad (2.16)$$

K_s vadinsime inhibicijos substratu konstanta.

Dabar į lygtį (2.13e) įstatykime išraiškas (2.14), (2.15) ir (2.16). Išreiškę e_{es} ir pertvarkę išraišką, gauname:

$$e_{es} = \frac{e_0 s_e}{K_M(1 + p_e/K_p) + s_e(1 + s_e/K_s)},$$

$$v = k_2 e_{es} = \frac{k_2 e_0 s_e}{K_M(1 + p_e/K_p) + s_e(1 + s_e/K_s)}.$$

Pažymėję $V_{max} = k_2 e_0$, gauname tokią išraišką:

$$v(s_e, p_e) = \frac{V_{max} s_e}{K_M(1 + p_e/K_p) + s_e(1 + s_e/K_s)}, \quad (2.17)$$

V_{max} yra maksimalus galimas fermentinės reakcijos greitis.

Perrašome lygčių sistemą (2.12) ($t > 0$):

$$\frac{\partial s_e}{\partial t} = D_{s_e} \frac{\partial^2 s_e}{\partial x^2} - v(s_e, p_e), \quad (2.18a)$$

$$\frac{\partial p_e}{\partial t} = D_{p_e} \frac{\partial^2 p_e}{\partial x^2} + v(s_e, p_e), \quad 0 < x < d_e. \quad (2.18b)$$

Esant Michaelio-Menten kinetikai, tam, kad būtų galima naudoti kvazistacionarumo prielaidą, turi būti tenkinama tokia sąlyga: $e_0 \ll s_0 + K_M$ (Segel ir Slemrod, 1989; Ciliberto ir kt., 2007).

2.1.6. Biojutiklio atsakas

Amperometrinio biojutiklio atsakas yra fiziniame eksperimente išmatuotas elektros srovės stipris. Remdamiesi Faradėjaus dėsniumi ir Pirmuoju Fiko dėsniumi, užrašome tokią srovės tankio išraišką:

$$j(t) = n_e F D_{p_e} \left. \frac{\partial p_e}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (2.19)$$

čia n_e yra elektronų, dalyvaujančių elektrocheminėje reakcijoje skaičius, o F yra Faradėjaus konstanta ($F = 96\,486 \text{ C/mol}$) (Scheller ir Schubert, 1992; Schulmeister, 1990).

Laikome, kad sistema (2.5)-(2.10), (2.18) artėja prie pusiausvyros būsenos, kai $t \rightarrow \infty$:

$$j_{st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t), \quad (2.20)$$

čia j_{st} yra stacionariosios biojutiklio srovės tankis.

Dar viena labai svarbi biojutiklio charakteristika yra jautris. Paprastai biojutiklio jautris yra apibrėžiamas kaip biojutiklio srovės išvestinė nuo substrato koncentracijos tirpale s_0 . Kadangi biojutiklio srovės stipris, o taip pat ir substrato koncentracija, gali kisti net per kelias eiles, tai bedimensė biojutiklio jautrio išraiška yra patogesnė naudojimui (Scheller ir Schubert, 1992; Baronas ir Kulys, 2008). Naudosime dviejų tipų bedimensius biojutiklio jautrius. Pirmojo tipo jautris yra priklausomas nuo stacionariosios biojutiklio srovės, o antrojo tipo jautris yra priklausomas nuo maksimalios biojutiklio srovės:

$$B_{st}(s_0) = \frac{dj_{st}(s_0)}{ds_0} \times \frac{s_0}{j_{st}(s_0)}, \quad (2.21a)$$

$$B_{max}(s_0) = \frac{dj_{max}(s_0)}{ds_0} \times \frac{s_0}{j_{max}(s_0)}, \quad (2.21b)$$

čia B_{st} ir B_{max} yra bedimensiai amperometrinio biojutiklio jautriai, $j_{st}(s_0)$ yra stacionariosios biojutiklio srovės tankis, esant substrato koncentracijai s_0 , $j_{max}(s_0)$ yra maksimaliosios biojutiklio srovės tankis, esant substrato koncentracijai s_0 .

2.1.7. Efektyvioji Michaelio konstanta

Idealiomis Michaelio-Menten kinetikos sąlygomis apibendrintosios reakcijos $S \rightarrow P$ greitis apibrėžiamas taip:

$$v(s_0) = \frac{V_{max}s_0}{K_M + s_0}.$$

Maksimalus galimas šios reakcijos greitis lygus:

$$\lim_{s_0 \rightarrow \infty} v(s_0) = \lim_{s_0 \rightarrow \infty} \frac{V_{max}s_0}{K_M + s_0} = V_{max}.$$

Kai koncentracija s_0 yra lygi konstantai K_M (šie dydžiai turi vienodus matavimo vienetus), tuomet reakcijos greitis yra lygus pusei maksimalaus įmanomo reakcijos greičio:

$$v(K_M) = \frac{V_{max}K_M}{K_M + K_M} = 0.5V_{max}.$$

Jeigu biojutiklis veiktų idealiomis Michaelio-Menten kinetikos sąlygomis, tuomet būtų galima apskaičiuoti Michaelio konstantą K_M iš kalibraci-

jos kreivės $i_{max}(s_0)$, kadangi $v(s_0)$ yra proporcingas $i_{max}(s_0)$:

$$V_{max} \sim \lim_{s_0 \rightarrow \infty} i_{max}(s_0), \quad 0.5V_{max} \sim 0.5 \lim_{s_0 \rightarrow \infty} i_{max}(s_0),$$

čia $i_{max}(s_0)$ yra maksimali biojutiklio generuojama srovė, kai substrato koncentracija tirpale lygi s_0 .

Kai Michaelio konstanta yra apskaičiuojama iš konkretaus biojutiklio kalibracijos kreivės, tuomet ši konstanta yra vadinama efektyviaja Michaelio konstanta K_{ef} (Baronas ir kt., 2010):

$$K_{ef} = \left\{ s_0^* : i_{max}(s_0^*) = 0.5 \lim_{s_0 \rightarrow \infty} i_{max}(s_0) \right\}. \quad (2.22)$$

Didesnė konstantos K_{ef} reikšmė reiškia ilgesnį substrato koncentracijų intervalą, kuriame kalibracijos kreivė elgiasi panašiai kaip tiesinė funkcija. Be to, esant substrato koncentracijoms $s_0 > K_{ef}$, biojutiklio jautris greitai mažėja ir šis koncentracijų intervalas tampa nepatrauklus biojutiklio matavimams. Kadangi K_{ef} yra lygi substrato koncentracijai, kuriai esant reakcijos greitis yra lygus pusei maksimalaus, K_{ef} galime laikyti substrato koncentracijos, reikalingos efektyviai katalizei, matu (Kadziauskas, 2012).

Paprastai realiuose biojutikliuose $K_{ef} \neq K_M$ (Turner ir kt., 1987). Matematinis biojutiklių modeliavimas parodė, kad esant tam tikroms sąlygoms, K_{ef} priklauso nuo biojutiklio geometrijos (Ivanauskas ir kt., 2008). Dar viename teorinio modeliavimo darbe buvo parodyta, kad K_{ef} galima padidinti, ribojant substrato difuziją (Štikonienė ir kt., 2010).

Tam, kad būtų patogiau tirti efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybę nuo biojutiklio parametrų, buvo įvesta bedimensė efektyvioji Michaelio konstanta:

$$\hat{K}_{ef} = \frac{K_{ef}}{K_M}. \quad (2.23)$$

2.1.8. Bedimensis matematinis modelis

Norint sumažinti modelio parametrų skaičių ir nustatyti svarbiausius matematinio modelio parametrus, buvo sukonstruotas bedimensis modelis (Baronas ir kt., 2010).

Paprastumo dėlei apibrėžkime substrato ir produkto koncentracijas s ir p visose matematinio modelio srityse $x \in [0, d_e + d_d]$ tokiu būdu ($t \geq 0$):

$$s = \begin{cases} s_e, & 0 \leq x \leq d_e, \\ s_d, & d_e < x \leq d_e + d_d \end{cases} \quad (2.24a)$$

$$p = \begin{cases} p_e, & 0 \leq x \leq d_e, \\ p_d, & d_e < x \leq d_e + d_d. \end{cases} \quad (2.24b)$$

Koncentracijų funkcijos (s ir p) yra tolydžios visose modelio srityse $x \in [0, d_e + d_d]$. Lentelėje 2.1 apibrėžti naujai įvedami bedimensiai modelio parametrai.

2.1 lentelė. Dimensiniai ir bedimensiai parametrai

Parametras	Dimensinis	Bedimensis
Laikas	t, s	$T = tD_{s_e}/d_e^2$
Fermento sluoksnio storis	d_e, cm	$\delta_e = d_e/d_e = 1$
Difuzijos sluoksnio storis	d_d, cm	$\delta_d = d_d/d_e$
Atstumas nuo elektrodo	x, cm	$X = x/d_e$
Substrato koncentracija	$s, \text{mol/l}$	$S = s/K_M, S_0 = s_0/K_M$
Produkto koncentracija	$p, \text{mol/l}$	$P = p/K_M$
Michaelio konstanta	$K_M, \text{mol/l}$	$\hat{K}_M = K_M/K_M = 1$
Inhibicijos substratu konstanta	$K_s, \text{mol/l}$	$\hat{K}_s = K_s/K_M$
Inhibicijos produktu konstanta	$K_p, \text{mol/l}$	$\hat{K}_p = K_p/K_M$
Srovės tankis	$j, \text{A cm}^{-2}$	$J = jd_e/(n_e F D_{p_e} K_M)$

Pagrindinės lygtys (2.18) bedimensėse koordinatėse išreiškiamos tokiu būdu:

$$\frac{\partial S}{\partial T} = \frac{\partial^2 S}{\partial X^2} - \sigma^2 \frac{S}{\left(1 + P/\hat{K}_p\right) + S \left(1 + S/\hat{K}_s\right)}, \quad (2.25a)$$

$$\frac{\partial P}{\partial T} = \frac{D_{p_e}}{D_{s_e}} \frac{\partial^2 P}{\partial X^2} + \sigma^2 \frac{S}{\left(1 + P/\hat{K}_p\right) + S \left(1 + S/\hat{K}_s\right)}, \quad (2.25b)$$

čia

$$\sigma^2 = \frac{V_{max} d_e^2}{D_{s_e} K_M}, \quad 0 < X < 1, \quad T > 0, \quad (2.26)$$

σ^2 yra vadinamas difuzijos moduliū arba Damköhler skaičiumi.

Pagrindinės lygtys (2.5) išreiškiamos tokiu būdu:

$$\frac{\partial S}{\partial T} = \frac{D_{s_d}}{D_{s_e}} \frac{\partial^2 S}{\partial X^2}, \quad (2.27a)$$

$$\frac{\partial P}{\partial T} = \frac{D_{p_d}}{D_{s_e}} \frac{\partial^2 P}{\partial X^2}, \quad 1 < X < 1 + \delta_d, \quad T > 0. \quad (2.27b)$$

Pradinės sąlygos (2.6) transformuojamos į tokias lygtis ($T = 0$):

$$S(X, 0) = 0, \quad P(X, 0) = 0, \quad 0 \leq X < 1 + \delta_d, \quad (2.28a)$$

$$S(1 + \delta_d, 0) = S_0, \quad P(1 + \delta_d, 0) = 0. \quad (2.28b)$$

Kraštinės sąlygos (2.7) - (2.9) konvertuojamos į tokias sąlygas ($T > 0$):

$$P(0, T) = 0, \quad (2.29a)$$

$$\left. \frac{\partial S}{\partial X} \right|_{X=0} = 0, \quad (2.29b)$$

$$S(1 + \delta_d, T) = S_0, \quad (2.29c)$$

$$P(1 + \delta_d, T) = 0. \quad (2.29d)$$

Derinimo sąlygos (2.10) įgyja tokį pavidalą ($T > 0$):

$$\left. \frac{\partial S}{\partial X} \right|_{X=1^-} = \frac{D_{s_d}}{D_{s_e}} \left. \frac{\partial S}{\partial X} \right|_{X=1^+}, \quad (2.30a)$$

$$\frac{D_{p_e}}{D_{s_e}} \left. \frac{\partial P}{\partial X} \right|_{X=1^-} = \frac{D_{p_d}}{D_{s_e}} \left. \frac{\partial P}{\partial X} \right|_{X=1^+}. \quad (2.30b)$$

Darant prielaidą, kad tiek substrato, tiek produkto difuzijos koeficientai yra vienodi, bedimensiame modelyje (2.25)-(2.30) lieka tik 6 parametrai: δ_d – difuzijos sluoksnio storis, S_0 – substrato koncentracija tirpale, \hat{K}_s – inhibicijos substratu konstanta, \hat{K}_p – inhibicijos produktu konstanta, σ^2 – difuzijos modulis ir $D_{rel} = D_{s_d}/D_{s_e} = D_{p_d}/D_{p_e}$ – difuzijos koeficientų difuzijos sluoksnyje ir fermento sluoksnyje santykis.

Biojutiklio savybėms tirti naudosime dar vieną plačiai naudojamą bedimensį dydį, vadinamą Biot skaičiumi Bi . Jis parodo substrato pernašos varžos vidiniame (fermento) sluoksnyje santykį su substrato pernašos varža išoriniame (difuzijos) sluoksnyje (Baronas ir kt., 2010; Ha ir kt., 2008):

$$Bi = \frac{d_e/D_{s_e}}{d_d/D_{s_d}} = \frac{D_{s_d}d_e}{D_{s_e}d_d}. \quad (2.31)$$

2.2. Biojutiklio su substratų sinergija matematinis modelis

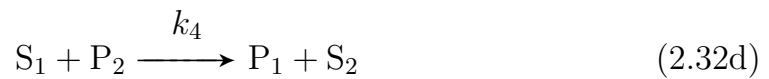
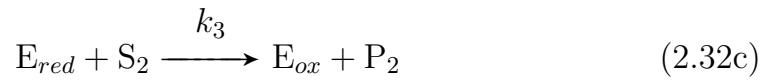
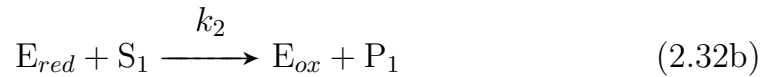
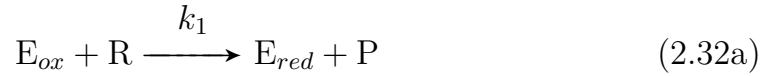
Biojutikliuose dažnai naudojami fermentai oksidazės. Tokiu atveju biokatalizės metu fermentas yra redukuojamas į tarpinę formą, o po to oksi-

duojamas elektronų akceptoriais (Ronkainen ir kt., 2010; Gutfreund, 1995; Wilson ir Turner, 1992; Gavalas ir Chaniotakis, 2000; Shan ir kt., 2004). Paprastai fermento redukcija yra labai specifiška reduktoriui reakcija, tuo tarpu fermento oksidacija yra mažiau specifiška ir gali vykti su daugeliu elektronų akceptorių (Kulys ir kt., 2010).

Fermentų kinetikos tyrimai, atliekami naudojant silpnai reakcingų ir smarkiai reakcingų elektronų akceptorių mišinius, parodė, kad silpnai reakcingo elektronų akceptoriaus redukcija gali smarkiai pagreitėti, jeigu kryžminės reakcijos tarp šių medžiagų greitis yra pakankamai didelis. Šis reiškinys yra naudojamas ypač jautrių biojutiklių su substratų sinergija gamyboje (Kulys ir Tetianec, 2005; Bratkovskaja ir kt., 2006; Kulys ir Vidziunaite, 2009).

2.2.1. Cheminės reakcijos biojutiklyje

Biojutiklio su substratų sinergija modelyje bus naudojama reakcijų schema, pasiūlyta gliukozės oksidazės biojutikliui J. Kulio ir L. Tetianec straipsnyje (Kulys ir Tetianec, 2005):



čia E_{ox} ir E_{red} yra atitinkamai oksiduota ir redukuota fermento formos, R yra fermento reduktorius, S_1 ir S_2 yra substratai, P , P_1 ir P_2 yra reakcijų produktai, o k_1 , k_2 , k_3 , k_4 yra reakcijų greičio konstantos.

Į reakcijas (2.32a) ir (2.32b) galime žiūrėti kaip į elektronų akceptoriaus S_1 redukciją reduktoriumi R , reakciją katalizuojant fermentu. Reakcijos (2.32a) metu fermentas yra redukuojamas reduktoriumi R , pagaminant redukuotą fermento formą E_{red} . Reakcijos (2.32b) metu elektronų akceptorius S_1 yra redukuojamas su E_{red} . Susidaro produktas P_1 , o fermento molekulė atgauna pirminę oksiduotą formą E_{ox} .

Kai į tirpalą yra įdedamas smarkiai reakcingas elektronų akceptorius S_2 , prasideda dar dvi cheminės reakcijos: (2.32c) ir (2.32d). Reakcijos (2.32c) metu fermento molekulė oksiduojama smarkiai reaktingu elektronų akceptoriumi S_2 . Reakcija (2.32d) vadinama kryžmine reakcija. Jos metu substratas S_1 oksiduoja produktą P_2 . Tokiu būdu šios reakcijos metu yra gaminamas substratas S_2 ir produktas P_1 .

Reakcijos (2.32e) ir (2.32f) yra elektrocheminės reakcijos, vykstančios ant elektrodo paviršiaus. Laikysime, kad abi reakcijos yra greitos ir negrįžtamosios dėl atitinkamai parinkto elektrodo potencialo.

Fericianido jonai ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) gali būti naudojami kaip silpnai reakcingi elektronų akceptoriai S_1 (Kulys ir Tetianec, 2005; Kulys ir Vidziunaite, 2009). Šiuo atveju ferocianido jonai ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$) būtų vadinami reakcijos produktu P_1 . Keletas medžiagų pavyzdžių, kurios gali būti naudojamos kaip smarkiai reakcingi elektronų akceptoriai, yra pateikta J. Kulio ir L. Tetianec straipsnyje (Kulys ir Tetianec, 2005).

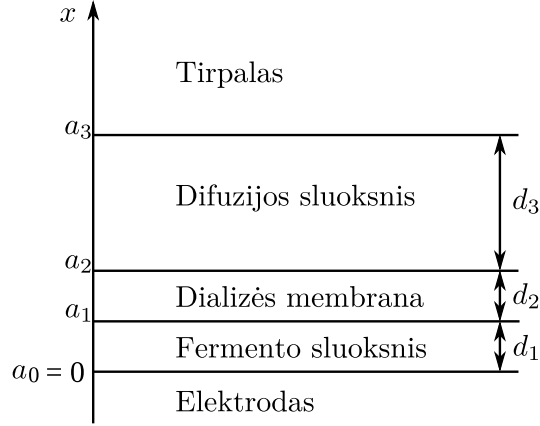
2.2.2. Biojutiklio struktūra

Sudarant amperometrinių biojutiklio matematinį modelį, pakanka atsižvelgti į darbinio fermentinio elektrodo struktūrą. Šiuo atveju fermentinis elektrodas buvo sukonstruotas ant grafitinio strypelio, dializės membrana pritvirtinus ploną fermento tirpalo sluoksnį (Kulys ir Tetianec, 2005).

Kurdami matematinį modelį, išskiriame keturias sritis: fermento sluoksnį, kuriame vyksta fermentinės bei cheminės reakcijos, o taip pat medžiagų difuzija, dializės membraną, kurioje vyksta cheminės reakcijos ir difuzija, difuzijos sluoksnį, kuriame vyksta cheminės reakcijos bei medžiagų difuzija ir tirpalo sritį, kurioje išlaikoma pastovi analizuojamos medžiagos koncentracija (žr. 2.2 pav.). Darant prielaidas, kad fermento molekulės yra tolygiai pasiskirsčiusios fermento sluoksnyje, o fermento ir dializės membranos sluoksniai yra vienodo storio per visą jų plotą, galima sudaryti vienmatį matematinį biojutiklio modelį (Schulmeister, 1990; Baronas ir kt., 2010).

Fermento, dializės membranos ir difuzijos sluoksnių storius pažymėkime atitinkamai d_1 , d_2 ir d_3 . Mums taip pat reikės kintamųjų, žyminčių atstumus nuo elektrodo paviršiaus iki srities krašto. Kintamaisiais a_1 , a_2 ir a_3 pažymėkime šiuos atstumus taip, kaip parodyta 2.2 pav.

Difuzijos sluoksnį ($a_2 < x < a_3$) modeliuojame, naudodamiesi Nernsto difuzijos sluoksnio modeliu (Britz, 2005). Remiantis šiuo modeliu, medžiagų koncentracija atstumu a_3 nuo elektrodo ir toliau tirpale nekis per visą eksperimento laiką.



2.2 pav. Biojutiklio struktūra.

2.2.3. Pagrindinės lygtys

Pagrindines lygtis galime sudaryti naudodamiesi Veikiančiųjų masių dėsniumi (Gutfreund, 1995; Bartlett ir Whitaker, 1987). Fermento sluoksnyje vykstančias reakcijas aprašome naudodamiesi Veikiančiųjų masių dėsniumi, o difuziją – naudodamiesi Antruoju Fiko dėsniumi. Tokiu būdu fermento sluoksniui gauname tokias reakcijos-difuzijos tipo lygtis ($0 < x < a_1$, $t > 0$):

$$\frac{\partial e_{ox}}{\partial t} = -k_1 e_{ox} r_1 + k_2 e_{red} s_{11} + k_3 e_{red} s_{21}, \quad (2.33a)$$

$$\frac{\partial e_{red}}{\partial t} = k_1 e_{ox} r_1 - k_2 e_{red} s_{11} - k_3 e_{red} s_{21}, \quad (2.33b)$$

$$\frac{\partial r_1}{\partial t} = D_{R1} \frac{\partial^2 r_1}{\partial x^2} - k_1 e_{ox} r_1, \quad (2.33c)$$

$$\frac{\partial s_{11}}{\partial t} = D_{S11} \frac{\partial^2 s_{11}}{\partial x^2} - k_2 e_{red} s_{11} - k_4 s_{11} p_{21}, \quad (2.33d)$$

$$\frac{\partial s_{21}}{\partial t} = D_{S21} \frac{\partial^2 s_{21}}{\partial x^2} - k_3 e_{red} s_{21} + k_4 s_{11} p_{21}, \quad (2.33e)$$

$$\frac{\partial p_{11}}{\partial t} = D_{P11} \frac{\partial^2 p_{11}}{\partial x^2} + k_2 e_{red} s_{11} + k_4 s_{11} p_{21}, \quad (2.33f)$$

$$\frac{\partial p_{21}}{\partial t} = D_{P21} \frac{\partial^2 p_{21}}{\partial x^2} + k_3 e_{red} s_{21} - k_4 s_{11} p_{21}, \quad (2.33g)$$

čia x yra erdvės koordinatė, t yra laikas, $e_{ox}(x, t)$ ir $e_{red}(x, t)$ yra atitinkamai oksiduoto (E_{ox}) ir redukuoto (E_{red}) fermento koncentracijos; $s_{11}(x, t)$ ir $s_{21}(x, t)$ ($p_{11}(x, t)$ ir $p_{21}(x, t)$) yra substratų (produktų) koncentracijos fermento sluoksnyje; $r_1(x, t)$ yra fermento reduktoriaus koncentracija fermento sluoksnyje, o D_{R1} , D_{S11} , D_{S21} , D_{P11} , D_{P21} yra atitinkamų medžiagų, nurodytų indeksu, difuzijos koeficientai fermento sluoksnyje. Koncentracijų ir difuzijos koeficientų kintamųjų pavadinimuose paskutinis numeris indekse

nurodo modelio sritį. Šiuo atveju 1 nurodo, kad tai yra fermento sluoksnis. Abi fermento molekulių formos E_{ox} ir E_{red} yra laikomos imobilizuotomis, todėl atitinkamose lygtyse nėra difuziją aprašančių narių.

Reakcijos produktas P nedalyvauja reakcijose kaip reagentas ir jo koncentracija nėra naudojama jokiuose skaičiavimuose. Todėl lygčių sistemoje (2.33) nėra lygties, skirtos produktui P.

Kadangi dializės membranoje ir difuzijos sluoksnyje nėra fermento molekulių, šiose srityse vyksta tik reakcija (2.32d) bei reduktoriaus, substratų ir produktų difuzija. Aprašome pagrindines lygtis šioms dviem sritims tokia diferencialinių lygčių sistema ($a_{i-1} < x < a_i$, $t > 0$, $i = 2, 3$):

$$\frac{\partial r_i}{\partial t} = D_{Ri} \frac{\partial^2 r_i}{\partial x^2}; \quad (2.34a)$$

$$\frac{\partial s_{1i}}{\partial t} = D_{S_{1i}} \frac{\partial^2 s_{1i}}{\partial x^2} - k_4 s_{1i} p_{2i}, \quad (2.34b)$$

$$\frac{\partial s_{2i}}{\partial t} = D_{S_{2i}} \frac{\partial^2 s_{2i}}{\partial x^2} + k_4 s_{1i} p_{2i}, \quad (2.34c)$$

$$\frac{\partial p_{1i}}{\partial t} = D_{P_{1i}} \frac{\partial^2 p_{1i}}{\partial x^2} + k_4 s_{1i} p_{2i}, \quad (2.34d)$$

$$\frac{\partial p_{2i}}{\partial t} = D_{P_{2i}} \frac{\partial^2 p_{2i}}{\partial x^2} - k_4 s_{1i} p_{2i}, \quad (2.34e)$$

čia $i = 2$ atitinka dializės membraną, o $i = 3$ difuzijos sluoksnį.

2.2.4. Pradinės sąlygos

Laikykime, kad $x = 0$ atitinka elektrodo paviršių, o $x = a_1$, $x = a_2$ ir $x = a_3$ yra atstumai nuo elektrodo paviršiaus iki gretimų sričių sandūrų, kaip apibrėžta 2.2.2 skirsnyje ir parodyta 2.2 pav. Biojutiklis pradeda veikti tuomet, kai tirpale atsiranda fermento reduktoriaus ir substrato molekulių. Tai aprašome tokiomis pradinėmis sąlygomis ($t = 0$):

$$r_1(x, 0) = s_{i1}(x, 0) = p_{i1}(x, 0) = 0, \quad 0 \leq x \leq a_1, \quad i = 1, 2, \quad (2.35a)$$

$$e_{red}(x, 0) = 0, \quad e_{ox}(x, 0) = e_0, \quad 0 < x < a_1, \quad (2.35b)$$

$$r_2(x, 0) = s_{i2}(x, 0) = p_{i2}(x, 0) = 0, \quad a_1 \leq x \leq a_2, \quad i = 1, 2, \quad (2.35c)$$

$$p_{i3}(x, 0) = 0, \quad a_2 \leq x \leq a_3, \quad i = 1, 2, \quad (2.35d)$$

$$r_3(x, 0) = s_{i3}(x, 0) = 0, \quad a_2 \leq x < a_3, \quad i = 1, 2, \quad (2.35e)$$

$$r_3(a_3, 0) = r_0, \quad s_{13}(a_3, 0) = s_{10}, \quad (2.35f)$$

$$s_{23}(a_3, 0) = \begin{cases} 0, & T_{S_2} > 0, \\ s_{20}, & T_{S_2} = 0, \end{cases} \quad (2.35g)$$

čia e_0 yra bendra fermento formų koncentracija fermento sluoksnyje ($e_0 = e_{ox}(x, t) + e_{red}(x, t), \forall x, t : x \in (0, a_1), t > 0$), r_0 yra fermento reduktoriaus koncentracija tirpale, s_{10} ir s_{20} yra substratų koncentracijos tirpale, T_{S_2} yra laiko momentas, kai į tirpalą įvedamas substratas S_2 .

2.2.5. Derinimo sąlygos

Kadangi skirtingose srityse medžiagos turi skirtingus difuzijos koeficientus, šių sričių sandūrose reikia apibrėžti derinimo sąlygas ($t > 0, i = 1, 2, m = 1, 2$):

$$D_{Rm} \frac{\partial r_m}{\partial x} \Big|_{x=a_m} = D_{R,m+1} \frac{\partial r_{m+1}}{\partial x} \Big|_{x=a_m}, \quad (2.36a)$$

$$D_{S_{im}} \frac{\partial s_{im}}{\partial x} \Big|_{x=a_m} = D_{S_{i,m+1}} \frac{\partial s_{i,m+1}}{\partial x} \Big|_{x=a_m}, \quad (2.36b)$$

$$D_{P_{im}} \frac{\partial p_{im}}{\partial x} \Big|_{x=a_m} = D_{P_{i,m+1}} \frac{\partial p_{i,m+1}}{\partial x} \Big|_{x=a_m}, \quad (2.36c)$$

$$r_m(a_m, t) = r_{m+1}(a_m, t), \quad (2.36d)$$

$$s_{im}(a_m, t) = s_{i,m+1}(a_m, t), \quad (2.36e)$$

$$p_{im}(a_m, t) = p_{i,m+1}(a_m, t), \quad (2.36f)$$

čia $m = 1$ atitinka fermento sluoksnio ir dializės membranos sandūrą, o $m = 2$ atitinka sandūrą tarp dializės membranos ir difuzijos sluoksnio.

Šios sąlygos reiškia, kad fermento reduktoriaus, substratų ir produktų srautai, išeinantys iš srities, yra lygūs srautams, įeinantiems į gretimą sritį. Taip pat laikoma, kad fermento reduktoriaus, substratų ir produktų koncentracijos ties sričių sandūromis yra lygios.

2.2.6. Kraštinės sąlygos

Tirpale, už difuzijos sluoksnio ribos, fermento reduktoriaus, substratų ir produktų koncentracijos nekinta ($t > 0$):

$$r_3(a_3, t) = r_0, \quad (2.37a)$$

$$s_{13}(a_3, t) = s_{10}, \quad (2.37b)$$

$$s_{23}(a_3, t) = \begin{cases} 0, & t < T_{S_2}, \\ s_{20}, & t \geq T_{S_2}, \end{cases} \quad (2.37c)$$

$$p_{i3}(a_3, t) = 0, \quad i = 1, 2. \quad (2.37d)$$

Reakcijų produktai P_1 ir P_2 dalyvauja elektrocheminėse reakcijose (2.32e) ir (2.32f), vykstančiose ant elektrodo paviršiaus ($x = 0$). Šių reakcijų greičius laikome pakankamai dideliais, kad elektrodo paviršiuje šių medžiagų koncentracijos išliktų lygiomis nuliui ($t > 0$) (Kulys ir Tetianec, 2005):

$$p_{11}(0, t) = 0, \quad (2.38a)$$

$$p_{21}(0, t) = 0. \quad (2.38b)$$

Kadangi reakcija (2.32e) gamina tiek pat S_1 , kiek suvartoja P_1 , tai P_1 srautas elektrodo paviršiuje yra lygus S_1 srautui, tik su priešingu ženklu. Ta pati prielaida daroma dėl reakcijos (2.32f) ir atitinkamai medžiagų S_2 ir P_2 . Šias priklausomybes aprašome tokiais kraštinėmis sąlygomis ($t > 0$):

$$D_{P_1} \left. \frac{\partial p_{11}}{\partial x} \right|_{x=0} = -D_{S_1} \left. \frac{\partial s_{11}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (2.39a)$$

$$D_{P_2} \left. \frac{\partial p_{21}}{\partial x} \right|_{x=0} = -D_{S_2} \left. \frac{\partial s_{21}}{\partial x} \right|_{x=0}. \quad (2.39b)$$

Fermento reduktorius R nedalyvauja elektrocheminėse reakcijose, todėl jam elektrodo paviršiuje užrašome nepratekėjimo sąlygą ($t > 0$):

$$D_{R1} \left. \frac{\partial r_1}{\partial x} \right|_{x=0} = 0. \quad (2.40)$$

2.2.7. Biojutiklio atsakas

Amperometrinio biojutiklio atsakas yra srovės stipris. Kadangi srovės stipris yra tiesiogiai proporcingas elektrodo paviršiaus plotui, modeliuojant amperometrinio biojutiklio veikimą, dažnai vietoje srovės stiprio naudojamas srovės tankis, kuris gaunamas srovės stiprį padalinus iš elektrodo paviršiaus ploto (Schulmeister, 1990; Baronas ir Kulys, 2008). Biojutiklio srovės tankį $j(t)$ laiko momentu t išreiškiame naudodamiesi Faradėjaus ir

Pirmuoju Fiko dėsniumi:

$$j_1(t) = n_1 F D_{P_1} \left. \frac{\partial p_{11}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (2.41a)$$

$$j_2(t) = n_2 F D_{P_2} \left. \frac{\partial p_{21}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (2.41b)$$

$$j(t) = j_1(t) + j_2(t), \quad (2.41c)$$

čia $j_1(t)$ ir $j_2(t)$ yra srovių tankiai, šias sroves generuoja atitinkamai reakcijos (2.32e) ir (2.32f), n_1 ir n_2 yra elektronų, dalyvaujančių krūvio pernešime elektrodo paviršiuje, skaičius atitinkamai reakcijose (2.32e) ir (2.32f), F yra Faradėjaus konstanta.

Laikome, kad sistema pasiekia pusiausvyrą, kai $t \rightarrow \infty$:

$$j_{st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t), \quad (2.42a)$$

$$j_{1st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j_1(t), \quad (2.42b)$$

$$j_{2st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j_2(t), \quad (2.42c)$$

čia j_{st} , j_{1st} ir j_{2st} yra stacionariosios biojutiklio srovės tankis.

Biojutiklio atsaką generuoja dvi elektrocheminės reakcijos (2.32e) ir (2.32f). Norint perprasti biojutiklio veikimą, svarbu iširti kiekvienos reakcijos įtaką suminiam biojutiklio atsakui. Elektrocheminės reakcijos (2.32e) įtakai tirti įvedame dydį Λ_1 , rodantį šios reakcijos sugeneruotos srovės santykinę dalį:

$$\Lambda_1 = \frac{j_{1st}}{j_{st}}. \quad (2.43)$$

Dar viena svarbi biojutiklio charakteristika yra jautris (Turner ir kt., 1987; Scheller ir Schubert, 1992). Biojutiklio jautris paprastai išreiškiamas kaip biojutiklio atsako išvestinė nuo analizuojamos medžiagos koncentracijos. Kadangi biojutiklio atsakas ir medžiagų koncentracijos gali kisti net per kelias eiles, patogiau yra naudoti bedimensę biojutiklio jautrio išraišką (Baronas ir Kulys, 2008).

Šis biojutiklis su substratų sinergija yra skirtas matuoti substrato S_2 koncentracijai (Kulys ir Tetianec, 2005), todėl mums svarbus būtent jautrumas šiam substratui:

$$B(s_{20}) = \frac{dj_{st}(s_{20})}{ds_{20}} \times \frac{s_{20}}{j_{st}(s_{20})}, \quad (2.44)$$

čia $j_{st}(s_{20})$ biojutiklio stacionariosios srovės tankis, kai substrato S_2 kon-

centracija tirpale lygi s_{20} . $B(s_{20})$ žymi biojutiklio jautrį prie koncentracijos s_{20} .

Kita svarbi sinergetinio biojutiklio charakteristika yra signalo stiprinimas, sukeltas sinergijos efekto (Kulys ir Tetianec, 2005). Šiam efektui tirti įveskime dydį Ψ , kurį išreiškime kaip santykį tarp biojutiklio atsako, tirpale esant substrato S_2 , ir biojutiklio atsako, kai tirpale nėra substrato S_2 :

$$\Psi(s_{20}) = \frac{j_{st}(s_{20})}{j_{st}(0)}, \quad (2.45)$$

čia $\Psi(s_{20})$ yra atsako stiprinimas sinergijos efektu, kai tirpale esanti substrato S_2 koncentracija lygi s_{20} (Kulys ir Tetianec, 2005; Baronas ir kt., 2004b).

2.2.8. Bedimensis matematinis modelis

Norint sumažinti modelio parametų skaičių ir nustatyti svarbiausius matematinio modelio parametrus, buvo sukonstruotas bedimensis modelis (Baronas ir kt., 2010).

Paprastumo dėlei apibrėžkime medžiagų koncentracijas visose matematinio modelio srityse $x \in [0, a_3]$ tokiu būdu ($t \geq 0$, $m = 1, 2$):

$$r = \begin{cases} r_1, & 0 \leq x \leq a_1, \\ r_2, & a_1 < x \leq a_2, \\ r_3, & a_2 < x \leq a_3, \end{cases} \quad (2.46a)$$

$$s_m = \begin{cases} s_{m1}, & 0 \leq x \leq a_1, \\ s_{m2}, & a_1 < x \leq a_2, \\ s_{m3}, & a_2 < x \leq a_3, \end{cases} \quad (2.46b)$$

$$p_m = \begin{cases} p_{m1}, & 0 \leq x \leq a_1, \\ p_{m2}, & a_1 < x \leq a_2, \\ p_{m3}, & a_2 < x \leq a_3. \end{cases} \quad (2.46c)$$

Koncentracijų funkcijos (r , s_m ir p_m , $m = 1, 2$) yra tolydžios visose modelio srityse $x \in [0, a_3]$. Bedimensio modelio parametrai yra pateikti 2.2 lentelėje.

Pagrindinės lygtys fermento sluoksnyje (2.33) bedimensėse koordinatėse

2.2 lentelė. Dimensiniai ir bedimensiniai parametrai

Parametras	Dimensinis	Bedimensinis
Laikas	t, s	$T = tD_{R1}/d_1^2$
S_2 įvedimo momentas	T_{S_2}, s	$\hat{T}_{S_2} = T_{S_2}D_{R1}/d_1^2$
Sluoksnio storis $m = 1..3$	d_m, cm	$\delta_m = d_m/d_1$
Sluoksnių sandūra $m = 1..3$	a_m, cm	$\lambda_m = a_m/d_1$
Atstumas iki elektrodo	x, cm	$X = x/d_1$
E_{ox} koncentracija	$e_{ox}, \text{mol/l}$	$\hat{E}_{ox} = e_{ox}/e_0$
E_{red} koncentracija	$e_{red}, \text{mol/l}$	$\hat{E}_{red} = e_{red}/e_0$
R koncentracija	$r, \text{mol/l}$	$\hat{R} = r/e_0, \hat{R}_0 = r_0/e_0$
S_m koncentracija $m = 1, 2$	$s_m, \text{mol/l}$	$\hat{S}_m = s_m/e_0, \hat{S}_{m0} = s_{m0}/e_0$
P_m koncentracija $m = 1, 2$	$p_m, \text{mol/l}$	$\hat{P}_m = p_m/e_0$
Srovės tankis	$j, \text{A cm}^{-2}$	$J = jd_1/(n_eFD_{P1}e_0)$
Stacionariosios srovės tankis	$j_{st}, \text{A cm}^{-2}$	$J_{st} = j_{st}d_1/(n_eFD_{P1}e_0)$
Greičio konstanta $m = 1..4$	$k_m, \text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	$\hat{k}_m = k_m/k_1$

išreiškiamos tokiu būdu ($0 < X < \lambda_1, T > 0$):

$$\frac{\partial \hat{E}_{ox}}{\partial T} = -\alpha \hat{E}_{ox} \hat{R} + \alpha \hat{k}_2 \hat{E}_{red} \hat{S}_1 + \alpha \hat{k}_3 \hat{E}_{red} \hat{S}_2, \quad (2.47a)$$

$$\frac{\partial \hat{E}_{red}}{\partial T} = \alpha \hat{E}_{ox} \hat{R} - \alpha \hat{k}_2 \hat{E}_{red} \hat{S}_1 - \alpha \hat{k}_3 \hat{E}_{red} \hat{S}_2, \quad (2.47b)$$

$$\frac{\partial \hat{R}}{\partial T} = \frac{\partial^2 \hat{R}}{\partial X^2} - \alpha \hat{E}_{ox} \hat{R}, \quad (2.47c)$$

$$\frac{\partial \hat{S}_1}{\partial T} = \frac{D_{S1}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{S}_1}{\partial X^2} - \alpha \hat{k}_2 \hat{E}_{red} \hat{S}_1 - \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.47d)$$

$$\frac{\partial \hat{S}_2}{\partial T} = \frac{D_{S2}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{S}_2}{\partial X^2} - \alpha \hat{k}_3 \hat{E}_{red} \hat{S}_2 + \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.47e)$$

$$\frac{\partial \hat{P}_1}{\partial T} = \frac{D_{P1}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{P}_1}{\partial X^2} + \alpha \hat{k}_2 \hat{E}_{red} \hat{S}_1 + \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.47f)$$

$$\frac{\partial \hat{P}_2}{\partial T} = \frac{D_{P2}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{P}_2}{\partial X^2} + \alpha \hat{k}_3 \hat{E}_{red} \hat{S}_2 - \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.47g)$$

čia $\alpha = k_1 e_0 d_1^2 / D_{R1}$.

Pagrindinės lygtys, aprašančios medžiagų koncentracijų dinamiką dializės membranoje ir difuzijos sluoksnyje (2.34), bedimensėse koordinatėse

išreiškiamos tokiu būdu ($\lambda_{k-1} < X < \lambda_k$, $k = 2, 3$, $T > 0$):

$$\frac{\partial \hat{R}}{\partial T} = \frac{D_{Rk}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{R}}{\partial X^2}, \quad (2.48a)$$

$$\frac{\partial \hat{S}_1}{\partial T} = \frac{D_{S_1k}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{S}_1}{\partial X^2} - \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.48b)$$

$$\frac{\partial \hat{S}_2}{\partial T} = \frac{D_{S_2k}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{S}_2}{\partial X^2} + \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.48c)$$

$$\frac{\partial \hat{P}_1}{\partial T} = \frac{D_{P_1k}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{P}_1}{\partial X^2} + \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2, \quad (2.48d)$$

$$\frac{\partial \hat{P}_2}{\partial T} = \frac{D_{P_2k}}{D_{R1}} \frac{\partial^2 \hat{P}_2}{\partial X^2} - \alpha \hat{k}_4 \hat{S}_1 \hat{P}_2. \quad (2.48e)$$

Pradinės sąlygos (2.35) transformuojamos į tokias bedimenses pradines sąlygas ($T = 0$):

$$\hat{R}(X, 0) = \hat{S}_k(X, 0) = \hat{P}_k(X, 0) = 0, \quad 0 \leq X \leq \lambda_1, \quad k = 1, 2, \quad (2.49a)$$

$$\hat{E}_{red}(X, 0) = 0, \quad \hat{E}_{ox}(X, 0) = \hat{E}_0, \quad 0 < X < \lambda_1, \quad (2.49b)$$

$$\hat{R}(X, 0) = \hat{S}_k(X, 0) = \hat{P}_k(X, 0) = 0, \quad \lambda_1 \leq X \leq \lambda_2, \quad k = 1, 2, \quad (2.49c)$$

$$\hat{P}_k(X, 0) = 0, \quad \lambda_2 \leq X \leq \lambda_3, \quad k = 1, 2, \quad (2.49d)$$

$$\hat{R}(X, 0) = \hat{S}_k(X, 0) = 0, \quad \lambda_2 \leq X < \lambda_3, \quad k = 1, 2, \quad (2.49e)$$

$$\hat{R}(\lambda_3, 0) = \hat{R}_0, \quad \hat{S}_1(\lambda_3, 0) = \hat{S}_{10}, \quad (2.49f)$$

$$\hat{S}_2(\lambda_3, 0) = \begin{cases} 0, & \hat{T}_{S_2} > 0, \\ \hat{S}_{20}, & \hat{T}_{S_2} = 0. \end{cases} \quad (2.49g)$$

Derinimo sąlygos (2.36) transformuojamos tokiu būdu ($T > 0$, $m = 1, 2$):

$$\left. \frac{D_{Rm}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{R}}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^-} = \left. \frac{D_{R,m+1}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{R}}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^+}, \quad (2.50a)$$

$$\left. \frac{D_{S_k m}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{S}_k}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^-} = \left. \frac{D_{S_k, m+1}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{S}_k}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^+}, \quad k = 1, 2, \quad (2.50b)$$

$$\left. \frac{D_{P_k m}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{P}_k}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^-} = \left. \frac{D_{P_k, m+1}}{D_{R1}} \frac{\partial \hat{P}_k}{\partial X} \right|_{X=\lambda_m^+}, \quad k = 1, 2. \quad (2.50c)$$

Kraštinės sąlygos (2.37) transformuojamos į tokias kraštinės sąlygas be-

dimensėse koordinatėse ($T > 0$):

$$\hat{R}(\lambda_3, T) = \hat{R}_0, \quad (2.51a)$$

$$\hat{S}_1(\lambda_3, T) = \hat{S}_{10}, \quad (2.51b)$$

$$\hat{S}_2(\lambda_3, T) = \begin{cases} 0, & T < \hat{T}_{S_2}, \\ \hat{S}_{20}, & T \geq \hat{T}_{S_2}, \end{cases} \quad (2.51c)$$

$$\hat{P}_k(\lambda_3, T) = 0, \quad k = 1, 2. \quad (2.51d)$$

Kraštinės sąlygos (2.38) transformuojamos į tokias bedimenses kraštines sąlygas ($T > 0$):

$$\hat{P}_1(0, T) = 0, \quad (2.52a)$$

$$\hat{P}_2(0, T) = 0. \quad (2.52b)$$

Kraštinės sąlygos (2.39) verčiamos į bedimenses koordinates tokiu būdu ($T > 0$):

$$\left. \frac{D_{S_1}}{D_{R_1}} \frac{\partial \hat{S}_1}{\partial X} \right|_{X=0} = - \left. \frac{D_{P_1}}{D_{R_1}} \frac{\partial \hat{P}_1}{\partial X} \right|_{X=0}, \quad (2.53a)$$

$$\left. \frac{D_{S_2}}{D_{R_1}} \frac{\partial \hat{S}_2}{\partial X} \right|_{X=0} = - \left. \frac{D_{P_2}}{D_{R_1}} \frac{\partial \hat{P}_2}{\partial X} \right|_{X=0}, \quad (2.53b)$$

o nepratekėjimo sąlyga (2.40) taip ($T > 0$):

$$\left. \frac{\partial \hat{R}}{\partial X} \right|_{X=0} = 0. \quad (2.54)$$

2.3. Apibendrinimas

Šiame skyriuje buvo pristatyti biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu bei biojutiklio su substratų sinergija matematiniai modeliai. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelyje buvo padaryta kvazistacionarumo prielaida, taip supaprastinant biojutiklio modelį bei pagreitinant uždavinio sprendimą skaitiniais metodais. Abiejuose modeliuose yra daroma prielaida, kad elektrocheminės reakcijos yra pakankamai greitos, kad elektrocheminių reakcijų reagentai būtų pilnai suvartojami, vos pasiekę elektrodo paviršių.

3 skyrius

Biojutiklių modeliavimo automatizavimas

Biojutiklių veikimo modeliavimas susideda iš kelių dalių. Pirmiausia sukuriamas matematinis modelis, tuomet pagal matematinį modelį yra kuriamas atitinkamas skaitinis modelis, tada kuriama programinė įranga, sprendžianti skaitinį uždavinį, o galiausiai, naudojantis šia programine įranga, yra tiriamas biojutiklio veikimas. Tam, kad kiekvieną kartą norint sumodeliuoti naują biojutiklį nereikėtų atlikti visų modeliavimo žingsnių iš naujo, reikia dalį veiksmų automatizuoti.

Šiam tikslui buvo sukurta programinė įranga, kurią naudojant automatizuotai atliekami pirmieji trys modeliavimo žingsniai. Vartotojas įveda duomenis apie modeliuojamąjį biojutiklį, naudodamasis dalykinės srities sąvokomis, ir programa atlieka atitinkamus skaičiavimus.

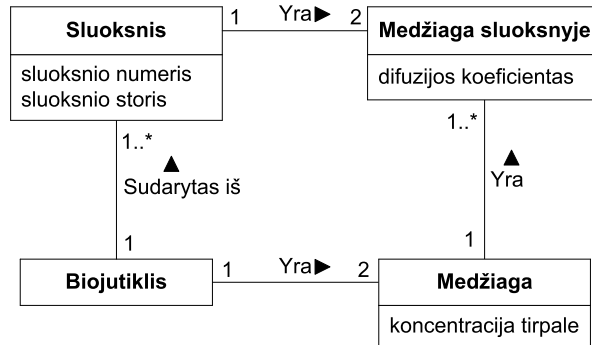
3.1. Apibendrintasis biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modelis

3.1.1. Dalykinės srities modelio aprašymas

Projektuojant programinę įrangą, skirtą biojutiklių su inhibicija substratu ir produktu modeliavimui, buvo sukurtas dalykinės srities modelis (Larman, 2001). Šis modelis buvo vizualizuotas UML klasių diagramomis 3.1 pav., 3.2 pav. ir 3.3 pav. (Fowler, 2003; Ambler, 2005). Diagramose pavaizduotos klasės nėra programinės įrangos klasės, tai dalykinės srities koncepcinės klasės (konceptai). Šis apibendrintas dalykinės srities modelis apibrėžia aibę biojutiklių, kuriuos geba modeliuoti sukurtoji programinė įranga.

Modelis buvo išskaidytas į tris dalis, atitinkančias tris biojutiklio modelio aspektus. UML klasių diagrama, pavaizduota 3.1 pav., atspindi biojutiklio modelio dalis, charakterizuojančias biojutiklio struktūrą ir medžiagų difuziją biojutiklyje. Klasių diagrama 3.2 pav. vaizduoja biojutiklio mode-

lio cheminės kinetikos aspektą, o trečioji diagrama, pavaizduota 3.3 pav., charakterizuoja keitiklio veikimą.



3.1 pav. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu dalykinės srities modelis. Biojutiklio struktūros ir medžiagų difuzijos aspektas.

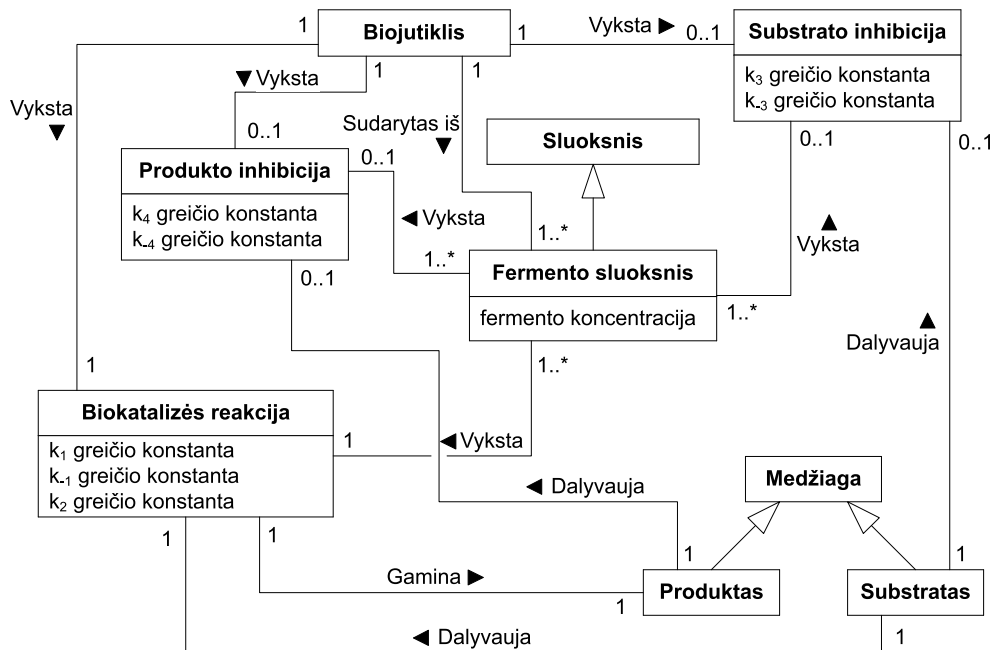
Pirmiausia aptarsime biojutiklio struktūrą ir medžiagų difuziją. Biojutiklis yra sudarytas iš kelių dalių – sluoksnių. Klasių diagramoje 3.1 pav. biojutiklį atitinka *Biojutiklio* konceptas, o biojutiklio sluoksnį – *Sluoksnio* konceptas. Naudodami ryšį *Sudarytas iš*, parodome, kad biojutiklis gali būti sudarytas iš vieno arba daugiau sluoksnių. *Sluoksnis* turi atributus *sluoksnio numeris* ir *sluoksnio storis*. Atributas *sluoksnio numeris* reikalingas tam, kad būtų galima nurodyti, koku eiliškumu biojutiklio sluoksniai sudėti, pradedant numeraciją nuo sluoksnio, uždėto tiesiogiai ant elektrodo. Atributas *sluoksnio storis* nurodo biojutiklio sluoksnio storį.

Biojutiklio konceptas yra susietas su *Medžiagos* konceptu. Modelyje figūruos tik dvi medžiagos: substratas ir produktas. Taip yra todėl, kad modelyje daroma kvazistacionarumo prielaida ir laikoma, kad kitos medžiagos (fermentas ir jo kompleksai su substratu bei produktu) nedaro įtakos biojutiklio veikimui ir nėra įtrauktos į koncepcinį modelį. Abi modeliuojamos medžiagos šioje diagramoje nesiskiria viena nuo kitos, kadangi tai nedaro įtakos biojutiklio struktūrai ar difuzijai. *Medžiagos* konceptas turi atributą *koncentracija tirpale*, kuris nurodo, kad tokia medžiagos koncentracija yra tirpale biojutikliui pradėjus veikti ir ši koncentracija bus išlaikyta biojutiklio veikimo metu.

Konceptas *Medžiaga sluoksnyje* atitinka medžiagą, patalpintą į biojutiklio sluoksnį. Šis konceptas turi atributą *difuzijos koeficientas*, kuris yra specifiskas medžiagai ir sluoksnio terpei, kurioje ši medžiaga difunduoja. Ryšys su *Sluoksnio* konceptu nurodo, kad kiekviename biojutiklio sluoksnyje yra abi medžiagos. Ar medžiaga iš tikrųjų gali patekti į konkretų biojutiklio sluoksnį, nulemia medžiagos difuzijos koeficientai tame ir kituose sluoksniuose. Jeigu medžiaga negali difunduoti konkrečiame sluoksnyje,

tuomet koncepto *Medžiaga sluoksnyje* atributas *difuzijos koeficientas* bus lygus 0.

Kitas svarbus biojutiklio modelio aspektas yra cheminė kinetika. Kalbant apie cheminę kinetiką, atsiranda skirtumai tarp skirtingų biojutiklio sluoksnių. Diagramoje, pavaizduotoje 3.2 pav., atsiranda naujas konceptas – *Fermento sluoksnis*, kuris paveldi atributus iš *Sluoksnio* koncepto, o taip pat turi papildomą atributą *fermento koncentracija*. Biojutiklis visada turi vieną ar daugiau šio koncepto egzempliorių. Tai yra būtina sąlyga, kadangi fermentinės reakcijos gali vykti tik tokio tipo sluoksniuose.



3.2 pav. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu dalykinės srities modelis. Cheminės kinetikos aspektas.

Biokatalizės reakcijos konceptas atitinka biokatalizės reakciją (2.1). Cheminiu požiūriu tai yra trys reakcijos, todėl konceptas turi tris atributus, atitinkančius tris reakcijų greičio konstantas. Ryšio *Vyksta* kardinalumai rodo, kad biojutiklyje visada turi vykti tik viena biokatalizės reakcija. Tai reiškia, kad net tuo atveju, kai biojutiklis sudarytas iš kelių fermento sluoksnių, juose turi būti naudojamas tas pats fermentas.

Diagramoje taip pat matome, kad biojutiklyje vyksta inhibicija substratu. *Inhibicijos substratu* konceptas atitinka reakciją (2.2), todėl turi du atributus, atitinkančius pirminės ir grįžtamosios reakcijų greičio konstantas. Ryšio tarp *Biojutiklio* ir *Inhibicijos substratu* konceptų kardinalumas rodo, kad inhibicija substratu biojutiklyje gali vykti arba nevykti, tai nulemia fermento bei substrato cheminė prigimtis.

Inhibicijos produktu konceptas atitinka reakciją (2.3), o jo atributai ati-

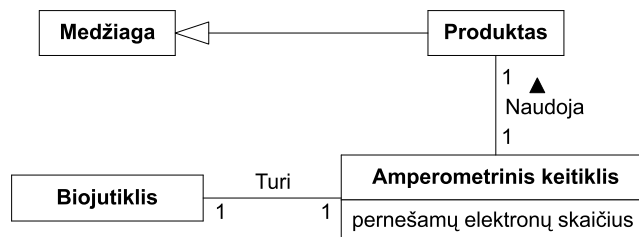
tinka pirminės ir grįžtamosios reakcijos greičio konstantas. Analogiškai kaip ir inhibicijos substratu atveju, ryšio su *Biojutikliu* kardinalumas rodo, kad inhibicija produktu biojutiklyje gali vykti arba nevykti.

Konceptai *Biokatalizės reakcija*, *Inhibicija substratu* ir *Inhibicija produktu* susieti su *Fermento sluoksniu* konceptu ryšiais, pavadintais *Vyksta*. Šie ryšiai nurodo, kad fermento sluoksniuose vyksta visos šios reakcijos. Inhibicijos substratu ir produktu reakcijos gali ir nevykti.

Modeliuojant cheminę kinetiką, atsiranda poreikis detaliau tipizuoti chemines medžiagas. Cheminės kinetikos požiūriu, viena medžiaga yra substratas, o kita yra produktas. Todėl iš koncepto *Medžiaga* išvedami du konceptai *Substratas* ir *Produktas*.

Substratas dalyvauja biokatalizės reakcijoje, kuri gamina produktą. Substratas gali dalyvauti inhibicijos substratu reakcijoje, jeigu ji vyksta. Atitinkamai produktas gali dalyvauti inhibicijos produktu reakcijoje, jeigu ji vyksta konkrečiame biojutiklyje.

Paskutinis svarbus biojutiklio modelio aspektas yra keitiklis. Šis aspektas yra pavaizduotas UML diagramoje 3.3 pav.



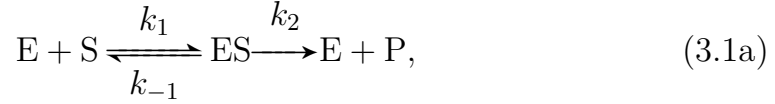
3.3 pav. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu dalykinės srities modelis. Keitiklio aspektas.

Kadangi yra modeliuojamas amperometrinis biojutiklis, toks biojutiklis turi turėti amperometrinių keitiklį, kuris atitinka diagramoje pavaizduotą *Amperometrinių keitiklio* konceptą. Amperometrinių keitiklio konceptas turi atributą *pernešamų elektronų skaičius*, kuris reikalingas srovės stiprio apskaičiavimui. Ryšys tarp biojutiklio ir keitiklio konceptų nurodo, kad biojutiklis visada turi vieną amperometrinių keitiklį. Koncepto *Amperometrinių keitiklis* ryšys su konceptu *Produktas* rodo, kad keitiklis visada naudoja produktą.

3.1.2. Matematinis modelis

Pagal apibendrintąjį dalykinės srities modelį, sudarykime apibendrintąjį matematinį biojutiklio modelį. Dalykinės srities modelis teigia, kad biojutiklis sudarytas iš keleto sluoksnių. Pirmasis sluoksniu yra uždėtas ant

elektrodo, antrasis – ant pirmojo sluoksniu ir t.t. Kai kuriuose biojutiklio sluoksniuose yra fermento ir juose vyksta fermentinės katalizės reakcija:



Darant kvazistacionarumo prielaidą, galime kiekvienam sluoksniui užrašyti tokias reakcijos-difuzijos lygtis:

$$\begin{aligned} \frac{\partial s^{(l)}}{\partial t} &= D_S^{(l)} \frac{\partial^2 s^{(l)}}{\partial x^2} - \frac{V_{max}^{(l)} s^{(l)}}{K_M (1 + p^{(l)}/K_p) + s^{(l)} (1 + s^{(l)}/K_s)}, \\ \frac{\partial p^{(l)}}{\partial t} &= D_P^{(l)} \frac{\partial^2 p^{(l)}}{\partial x^2} + \frac{V_{max}^{(l)} s^{(l)}}{K_M (1 + p^{(l)}/K_p) + s^{(l)} (1 + s^{(l)}/K_s)}, \\ x &\in (a_{l-1}, a_l), \quad a_l = a_{l-1} + d_l, \quad l = 1, \dots, L, \end{aligned} \quad (3.2)$$

čia x ir t yra atitinkamai atstumas nuo elektrodo ir laikas, $s^{(l)}(x, t)$ ir $p^{(l)}(x, t)$ yra atitinkamai substrato ir produkto koncentracija l -ajame sluoksnyje, d_l yra l -ojo sluoksniu storis, a_l yra l -ojo ir $(l+1)$ -ojo sluoksniu sandūra, $a_0 = 0$, $D_S^{(l)}$ ir $D_P^{(l)}$ yra substrato bei produkto difuzijos koeficientai l -ajame sluoksnyje, $V_{max}^{(l)}$ yra maksimalusis fermentinės reakcijos greitis l -ajame sluoksnyje, K_M , K_s ir K_p yra Michaelio konstanta, inhibicijos substratu konstanta ir inhibicijos produktu konstanta, L yra biojutiklio sluoksnių skaičius.

$e_0^{(l)}$ pažymėkime visų fermento formų koncentracijų sumą l -ajame sluoksnyje. Tuose biojutiklio sluoksniuose, kuriuose fermento nėra ($e_0^{(l)} = 0$), maksimalusis fermentinės reakcijos greitis bus lygus nuliui ($V_{max}^{(l)} = k_2 e_0^{(l)} = 0$). Taigi befermenčiams sluoksniams užrašytose lygtyse kinetikos nario nelieka.

Laikykime, kad $x = a_0$ yra elektrodo paviršius, o $x = a_L$ yra paskutiniojo biojutiklio sluoksniu sandūra su tirpalu. Biojutiklis pradeda veikti tuomet, kai paskutiniojo biojutiklio sluoksniu kraštą pasiekia substrato mo-

lekulės. Sudarykime atitinkamas pradines sąlygas ($t = 0$):

$$s^{(l)}(x, 0) = 0, \quad x \in [a_{l-1}, a_l], \quad l = 1, \dots, L-1, \quad (3.3a)$$

$$s^{(L)}(x, 0) = 0, \quad x \in [a_{L-1}, a_L], \quad (3.3b)$$

$$s^{(L)}(a_L, 0) = s_0, \quad (3.3c)$$

čia s_0 yra substrato koncentracija tirpale.

Produkto koncentracija pradiniu laiko momentu lygi nuliui visuose biojutiklio sluoksniuose:

$$p^{(l)}(x, 0) = 0, \quad x \in [a_{l-1}, a_l], \quad l = 1, \dots, L. \quad (3.4)$$

Substratui ir produktui kraštinės sąlygos ant elektrodo paviršiaus skiriasi. Substratas yra neutralus elektrodo atžvilgiu, todėl jam yra taikoma nepratekėjimo sąlyga, o produktas sureaguoja vos pasiekęs elektrodo paviršių, todėl jo koncentracija ant elektrodo visada lygi nuliui ($t > 0$):

$$D_S^{(1)} \frac{\partial s^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad (3.5a)$$

$$p^{(1)}(0, t) = 0. \quad (3.5b)$$

Sluoksnių sandūrose apibrėžkime derinimo sąlygas ($t > 0$):

$$D_S^{(l)} \frac{\partial s^{(l)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l} = D_S^{(l+1)} \frac{\partial s^{(l+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l}, \quad s^{(l)}(a_l, t) = s^{(l+1)}(a_l, t), \quad (3.6a)$$

$$D_P^{(l)} \frac{\partial p^{(l)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l} = D_P^{(l+1)} \frac{\partial p^{(l+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l}, \quad p^{(l)}(a_l, t) = p^{(l+1)}(a_l, t). \quad (3.6b)$$

Šios derinimo sąlygos apibrėžia, kad iš l -ojo sluoksnio išeinantys medžiagų srautai yra lygūs į $(l+1)$ -ąjį sluoksnį įeinantiems srautams, o medžiagų koncentracija ties sluoksnių sandūra yra vienoda abiejuose sluoksniuose.

Laikysime, kad paskutiniojo biojutiklio sluoksnio sandūroje su tirpalu medžiagų koncentracija visą laiką išlaikoma pastovia ($t > 0$):

$$s^{(L)}(a_L, t) = s_0, \quad (3.7a)$$

$$p^{(L)}(a_L, t) = 0. \quad (3.7b)$$

Biojutiklio srovės tankis apskaičiuojamas, naudojantis Faradėjaus bei Pirmuoju Fiko dėsniumi (Baronas ir kt., 2010):

$$j(t) = n_e F D_P^{(1)} \left. \frac{\partial p^{(1)}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (3.8)$$

čia $j(t)$ yra srovės tankis, n_e – krūvio pernešimo metu pernešamų elektronų skaičius, F – Faradėjaus konstanta.

Stacionariosios biojutiklio srovės tankį j_{st} apibrėžkime tokiu būdu:

$$j_{st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t). \quad (3.9)$$

3.1.3. Skaitinis modelis

Pagal ankstesniajame skirsnyje sudarytą apibendrintą biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu matematinį modelį, sudarykime skaitinį modelį.

Tam, kad skaitiškai išspręstume mišrųjį uždavinį (3.2) - (3.7), pradžioje reikia ant srities $[a_0, a_L] \times [0, T]$ uždėti diskretųjį tinklą (T yra biojutiklio veikimo trukmė). Biojutiklio sluoksnių storai gali labai skirtis, todėl verta kiekvienam sluoksniui žingsnį parinkti individualiai. Sudarykime tolygųjį diskretųjį tinklą, biojutiklio veikimo laiką dalindami į M lygių dalių, o kiekvieną sluoksnį dalindami į N lygių dalių:

$$\begin{aligned} \omega_h^{(l)} &= \{x_i^{(l)} : x_i^{(l)} = a_{l-1} + ih_l, \quad i = 0, \dots, N, \quad x_N^{(l)} = a_l\}, \\ \omega_\tau &= \{t_j : t_j = j\tau, \quad j = 0, \dots, M, \quad t_M = T\}, \\ l &= 1, \dots, L, \end{aligned} \quad (3.10)$$

čia h_l yra erdvės žingsnis l -ajame biojutiklio sluoksnyje, τ yra žingsnis pagal laiką.

Pažymėkime medžiagų koncentracijas diskretinio tinklo mazguose tokiu būdu:

$$\begin{aligned} S_{ij}^{(l)} &= s^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j), \quad P_{ij}^{(l)} = p^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j), \\ i &= 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M, \quad l = 1, \dots, L. \end{aligned} \quad (3.11)$$

Aproksimuokime pagrindines lygtis (3.2), naudodami baigtinių skirtumų

metodo išreikštine schema:

$$\begin{aligned}\frac{S_{i,j+1}^{(l)} - S_{ij}^{(l)}}{\tau} &= D_S^{(l)} \frac{S_{i+1,j}^{(l)} - 2S_{ij}^{(l)} + S_{i-1,j}^{(l)}}{h_l^2} - V(S_{ij}^{(l)}, P_{ij}^{(l)}), \\ \frac{P_{i,j+1}^{(l)} - P_{ij}^{(l)}}{\tau} &= D_P^{(l)} \frac{P_{i+1,j}^{(l)} - 2P_{ij}^{(l)} + P_{i-1,j}^{(l)}}{h_l^2} + V(S_{ij}^{(l)}, P_{ij}^{(l)}), \\ V(S_{ij}^{(l)}, P_{ij}^{(l)}) &= \frac{V_{max}^{(l)} S_{ij}^{(l)}}{K_M \left(1 + P_{ij}^{(l)} / K_p\right) + S_{ij}^{(l)} \left(1 + S_{ij}^{(l)} / K_s\right)}, \\ i &= 1, \dots, N-1, \quad j = 0, \dots, M-1, \quad l = 1, \dots, L.\end{aligned}\tag{3.12}$$

Pradinės sąlygas (3.3) perrašykime tokiu būdu:

$$S_{i0}^{(l)} = 0, \quad i = 0, \dots, N, \quad l = 1, \dots, L-1,\tag{3.13a}$$

$$S_{i0}^{(L)} = 0, \quad i = 0, \dots, N-1,\tag{3.13b}$$

$$S_{N0}^{(L)} = s_0,\tag{3.13c}$$

o (3.4) perrašykime taip:

$$P_{i0}^{(l)} = 0, \quad i = 0, \dots, N, \quad l = 1, \dots, L.\tag{3.14}$$

Kraštinės sąlygos (3.5) virsta tokiomis skirtuminėmis lygtimis:

$$\begin{aligned}D_S^{(1)} \frac{S_{1j}^{(1)} - S_{0j}^{(1)}}{h_1} &= 0, \\ P_{0j}^{(1)} &= 0, \\ j &= 1, \dots, M.\end{aligned}\tag{3.15}$$

Derinimo sąlygos (3.6) aproksimuojamos tokiomis skirtuminėmis lygtimis:

$$\begin{aligned}D_S^{(l)} \frac{S_{Nj}^{(l)} - S_{N-1,j}^{(l)}}{h_l} &= D_S^{(l+1)} \frac{S_{1j}^{(l+1)} - S_{0j}^{(l+1)}}{h_{l+1}}, \quad S_{Nj}^{(l)} = S_{0j}^{(l+1)}, \\ D_P^{(l)} \frac{P_{Nj}^{(l)} - P_{N-1,j}^{(l)}}{h_l} &= D_P^{(l+1)} \frac{P_{1j}^{(l+1)} - P_{0j}^{(l+1)}}{h_{l+1}}, \quad P_{Nj}^{(l)} = P_{0j}^{(l+1)}, \\ j &= 1, \dots, M, \quad l = 1, \dots, L-1.\end{aligned}\tag{3.16}$$

Kraštinės sąlygos (3.7), apibrėžiančios medžiagų koncentracijas pasku-

tiniojo biojutiklio sluoksnio sandūroje su tirpalu, perrašomos tokiu būdu:

$$S_{Nj}^{(L)} = s_0, \quad P_{Nj}^{(L)} = 0, \quad j = 1, \dots, M. \quad (3.17)$$

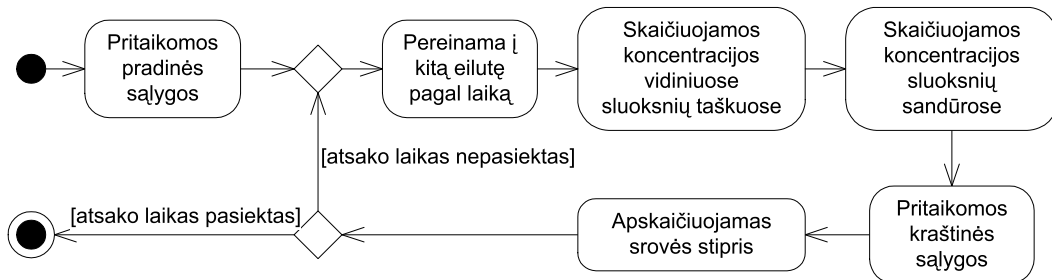
Išsprendus skaitinį uždavinį, naudojantis medžiagų koncentracijų reikšmėmis tinklo mazguose, galima apskaičiuoti biojutiklio srovės tankį bet kuriuo momentu t_j , $j = 0, \dots, M$:

$$j(t_j) \approx n_e F D_P^{(1)} \frac{P_{1j}^{(1)} - P_{0j}^{(1)}}{h_1}. \quad (3.18)$$

3.1.4. Skaitinio uždavinio sprendimas

Ankstesniame skirsnyje, naudodamiesi baigtinių skirtumų metodu, sudarėme skirtuminių lygčių sistemą pagal išreikštinę schemą. Šį uždavinį galima spręsti ir pagal neišreikštinę schemą. Sukurtąja programine įranga galima spręsti uždavinį abiem šiais būdais (Samarskii, 2001; Kvedaras ir Sapagovas, 1974; Čiegis, 2003).

Skaitinio uždavinio sprendimo algoritmas, kai naudojama išreikštinė schema, pateiktas 3.4 pav. UML veiklų diagramoje.



3.4 pav. Uždavinio sprendimas baigtinių skirtumų metodu pagal išreikštinę schemą.

Uždavinio sprendimas prasideda, pritaikant pradinės sąlygas. Tai padarius, yra gaunamos medžiagų koncentracijos visuose gardelės taškuose, atitinkančiuose pradinį laiko momentą $t = 0$.

Kadangi jau žinomos koncentracijos visuose šios eilutės taškuose, pereinama į kitą eilutę.

Išreikštinė schema pasižymi tuo, kad medžiagų koncentracijos tinklo taškuose yra išskaičiuojamos iš koncentracijų ankstesnės eilutės taškuose, tačiau tokiu būdu apskaičiuojamos tik koncentracijos vidiniuose biojutiklio sluoksnių taškuose. Lieka neapskaičiuotos medžiagų koncentracijos ant elektrodo paviršiaus $x = 0$, koncentracijos biojutiklio sluoksnių sandūrose bei koncentracijos taške, kur paskutinis biojutiklio sluoksnis ribojasi su

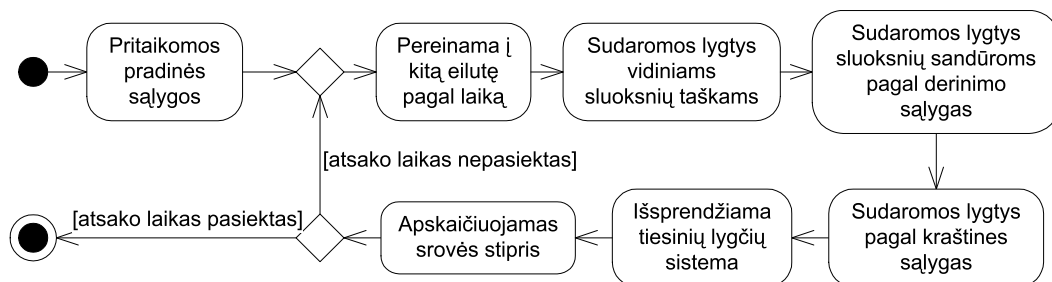
tirpalu.

Koncentracijos biojutiklio sluoksnių sandūrose skaičiuojamos pagal derinimo sąlygas. Kadangi derinimo sąlygose nėra išvestinių pagal laiką, šios koncentracijos apskaičiuojamos iš einamosios eilutės taškų, kurie buvo apskaičiuoti ankstesniame algoritmo žingsnyje.

Koncentracijos ant elektrodo paviršiaus ir sandūroje su tirpalu skaičiuojamos pagal kraštines sąlygas. Ant elektrodo paviršiaus substratui yra taikoma nepratekėjimo sąlyga. Skaitiniame uždavinyje tai reiškia, kad koncentracija ant elektrodo paviršiaus turi būti prilyginta koncentracijai greta esančiame vidiniame sluoksnio taške. Pagal produkto suvartojimo ant elektrodo paviršiaus kraštinę sąlygą, koncentracija šiame taške prilyginama 0. Kadangi koncentracija šiame taške algoritmo eigoje nekinta, efektyvumo dėlei algoritmas įgyvendintas tokiu būdu, kad šios reikšmės nereikia priskirti kiekvienoje iteracijoje. Kraštinės sąlygos, apibrėžiančios medžiagų koncentracijas paskutiniojo biojutiklio sluoksnio sandūroje su tirpalu, taip pat nurodo, kad čia koncentracijos yra fiksuotos ir nekinta veikiant biojutikliui. Algoritmas įgyvendintas taip, kad šių priskyrimų nereikėtų atlikti kiekvienoje iteracijoje.

Kai žinomos medžiagų koncentracijos visuose einamosios eilutės taškuose, tuomet yra apskaičiuojamas srovės stipris. Priklausomai nuo sąlygos, kaip yra nustatomas atsako laikas, šis srovės stipris gali būti reikalingas nustatyti, ar jau pasiektas atsako laikas. Jeigu atsako laikas jau pasiektas, tuomet algoritmas baigia darbą. Kitu atveju pradedama nauja iteracija, kuri prasideda perėjimu į kitą diskrečiojo tinklo eilutę.

Skaitinio uždavinio sprendimo algoritmas, kai naudojama neišreikštinė schema, pateiktas 3.5 pav. UML veiklų diagramoje.



3.5 pav. Uždavinio sprendimas baigtinių skirtumų metodu pagal neišreikštinę schemą.

Algoritmas prasideda analogiškai kaip ir išreikštinės schemos atveju, priskiriant koncentracijas pagal pradines sąlygas ir pereinant į kitą eilutę pagal laiką.

Neišreikštinė schema yra ypatinga tuo, kad ja naudojantis, negalima iš karto suskaičiuoti koncentracijų, naudojantis koncentracijomis ankstesnės eilutės taškuose. Neišreikštinės schemas atveju, norint suskaičiuoti einamosios eilutės taškus, reikia sudaryti lygčių sistemą, kurios nežinomieji yra šios koncentracijos.

Pirmiausia sudaromos lygtys vidiniams biojutiklio sluoksnių taškams. Kiekvienoje lygtyje yra naudojama viena koncentracija iš ankstesnės eilutės ir trys nežinomieji, atitinkantys koncentracijas einamosios eilutės taškuose. Tam, kad sudarytos lygtys būtų tiesinės, lygties kinetikos dalis yra apskaičiuojama pagal ankstesnėje iteracijoje suskaičiuotas koncentracijų reikšmes.

Koncentracijoms biojutiklio sluoksnių sandūros taškuose apskaičiuoti, kaip lygtys yra įrašomos derinimo sąlygos.

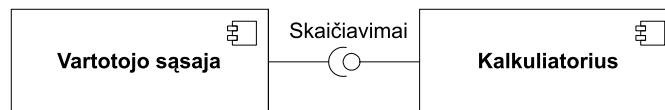
Tam, kad lygčių sistemoje būtų tiek lygčių, kiek yra nežinomųjų, dar trūksta dviejų lygčių. Šios dvi lygtys yra sudaromos pagal kraštines sąlygas. Viena kraštinė sąlyga apibrėžia medžiagų koncentracijas elektrodo paviršiuje, o kita – paskutiniojo biojutiklio sluoksnio sandūroje su tirpalu.

Sudarytos tiesinių lygčių sistemos matrica yra trijstrižainė. Dėl šios savybės lygčių sistema labai efektyviai išsprendžiama, naudojantis specialiu algoritmu (Kvedaras ir Sapagovas, 1974).

Išsprendus tiesinių lygčių sistemą, sužinomos visos koncentracijos einamosios eilutės taškuose. Tuomet yra apskaičiuojamas srovės stipris. Jeigu atsako laiko nustatymo sąlyga reikalauja, šis srovės stipris yra naudojamas nustatyti, ar jau pasiektas atsako laikas. Tuo atveju, kai atsako laikas pasiektas, algoritmas baigia darbą. Jeigu atsako laikas nepasiektas, pereinama į kitą diskrečiojo tinklo eilutę ir taip prasideda nauja algoritmo iteracija.

3.1.5. Programinė įranga

Programinė įranga, skirta spręsti biojutiklio modeliavimo uždaviniui, yra sudaryta iš dviejų dalių, kaip pavaizduota UML komponentų diagramoje 3.6 pav.



3.6 pav. Programinės įrangos architektūra.

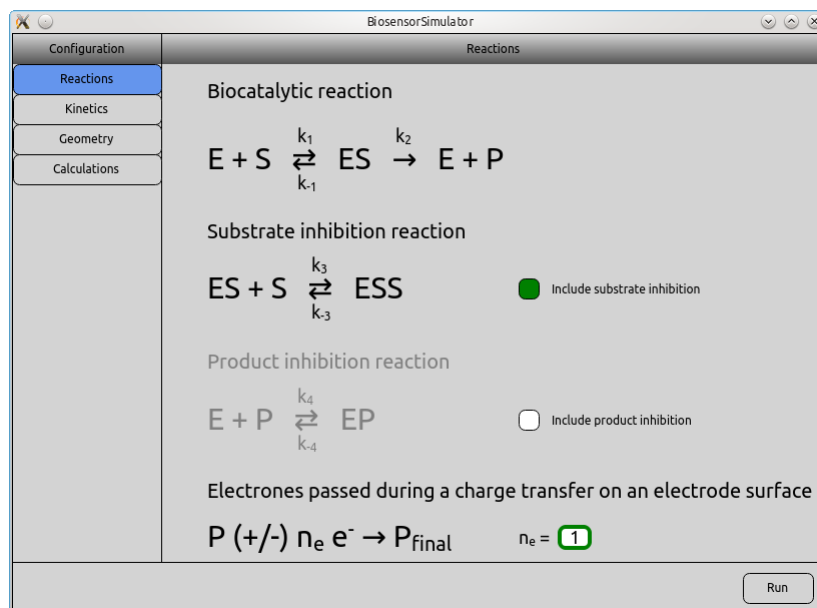
Kalkulatoriumi yra pavadinta programinės įrangos dalis, sprendžianti skaitinį uždavinį baigtinių skirtumų metodu pagal išreikštinę ir neišreikštinę schemas. Ši programinės įrangos dalis yra realizuota dinamine biblioteka

libbiosensor_calculator.so.

Labai svarbu, kad ši programos dalis veiktų kuo efektyviau, kadangi kompiuterinis modeliavimas yra imlus procesoriaus laikui. Dėl šios priežasties dinaminė biblioteka *Kalkulatorius* buvo įgyvendinta C programavimo kalba (Press ir kt., 1992). Ši dinaminė biblioteka yra atvirojo kodo, išeitės tekstai pateikti adresu: <https://github.com/dainiussimelevicius/Biosensor-Calculator-Library.git>.

Kitas programinės įrangos komponentas yra vartotojo sąsaja. Naudojamas vartotojo sąsaja, vartotojas pateikia programai modeliuojamojo biojutiklio parametrus. Buvo sukurta grafinė vartotojo sąsaja, kuri buvo įgyvendinta programa *BiosensorSimulator*.

Grafinė vartotojo sąsaja buvo kuriama C++ programavimo kalba, naudojant Qt vartotojo sąsajos kūrimo bibliotekas. Qt yra multiplatforminė technologija, todėl tuos pačius išeitės tekstus galima kompiliuoti skirtingose operacinėse sistemose. Ši programa taip pat yra atvirojo kodo, išeitės tekstai pateikti viešai, adresu: <https://github.com/dainiussimelevicius/Biosensor-Simulator.git>.



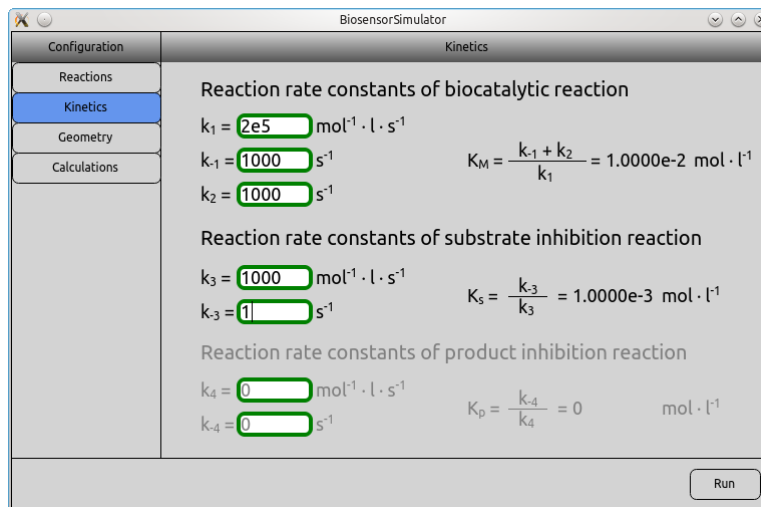
3.7 pav. Reakcijų skirsnis.

Abiejų programinės įrangos komponentų vykdomieji failai, skirti kelioms operacinėms sistemoms, yra pateikti adresu: <http://uosis.mif.vu.lt/~dainius/>.

Kaip matome iš diagramos 3.6 pav., programinės įrangos komponentai bendrauja per sąsają *Skaičiavimai*. *Vartotojo sąsaja* pagal vartotojo nurodytus biojutiklio parametrus suformuoja tam tikrą duomenų struktūrą, kuri yra perduodama *Kalkulatoriui*.

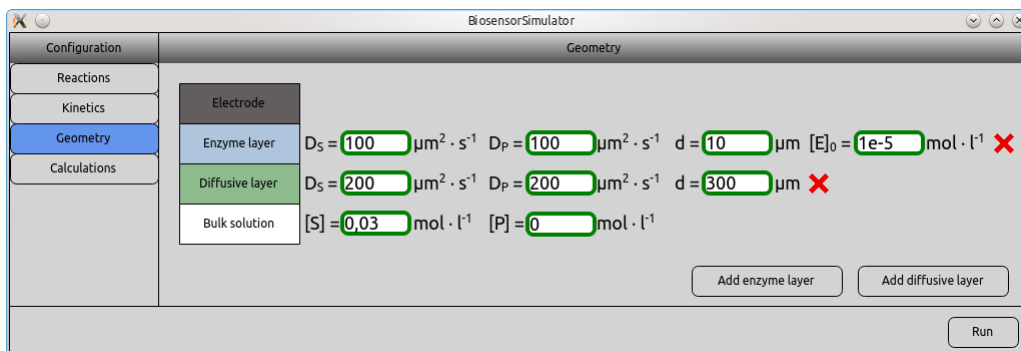
Grafinėje vartotojo sąsajoje parametrai, kuriuos vartotojas turi pateikti programai, yra suskirstyti į keturias grupes. Programoje tai atitinka keturis skirsnius, pavadintus: *Reactions*, *Kinetics*, *Geometry* ir *Calculations*.

3.7 pav. yra pateiktas ekrano vaizdas, kuriame matosi atvertas skirsnis *Reactions*. Šiame skirsnyje yra pateikta cheminių reakcijų, vykstančių biojutiklyje, schema. Čia, naudojant atitinkamus žymimuosius langelius, galima nurodyti, ar biojutiklyje vyksta inhibicija substratu ir inhibicija produktu. Šiame skirsnyje taip pat reikia nurodyti, kiek elektronų dalyvauja krūvio pernašoje elektrocheminės reakcijos metu.



3.8 pav. Kinetikos skirsnis.

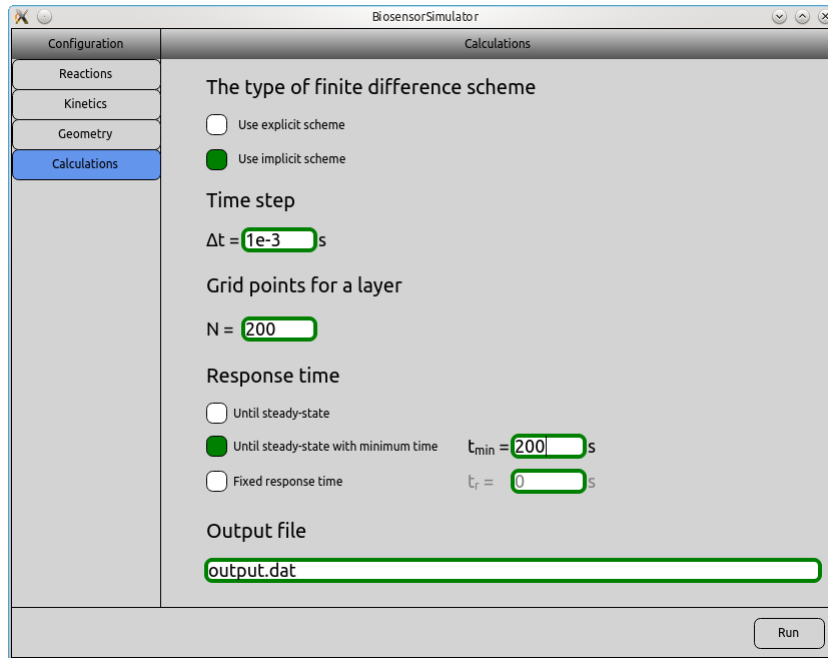
3.8 pav. yra pateiktas ekrano vaizdas, kuriame matosi atvertas skirsnis *Kinetics*. Šiame skirsnyje vartotojas turi įvesti reakcijų greičio konstantas. Kadangi *Reactions* skirsnyje buvo pažymėta, kad inhibicija produktu nevyksta, reakcijos greičio konstantų k_4 ir k_{-4} įvedinėti nereikia.



3.9 pav. Biojutiklio struktūros (geometrijos) skirsnis.

3.9 pav. yra pateiktas ekrano vaizdas, kuriame matosi atvertas skirsnis *Geometry*. Šiame skirsnyje vartotojas gali apibrėžti biojutiklio struktūrą

– pridėti biojutiklio sluoksnius, nurodyti jų storius ir medžiagų difuzines savybes šių sluoksnių terpėse. Jeigu biojutiklio sluoksniu yra fermentinis sluoksniu, tuomet papildomai reikia nurodyti ir fermento koncentraciją šiame sluoksnyje. Jeigu apibrėžiami keli fermentiniai sluoksniu, tai laikoma, kad visuose sluoksniuose yra tas pats fermentas. Šiame skirsnyje taip pat nurodomos substrato ir produkto koncentracijos tirpale.



3.10 pav. Skaičiavimų skirsnis.

3.10 pav. yra pateiktas ekrano vaizdas, kuriame matosi atvertas skirsnis *Calculations*. Šiame skirsnyje įvedami parametrai nėra susiję su biojutiklio matematiniu modeliu. Pirmiausia programai nurodoma, kokia baigtinių skirtumų schema bus naudojama: išreikštinė ar neišreikštinė. Parametras Δt nurodo žingsnį pagal laiką skaitiniame uždavinyje. Žingsnis pagal erdvę yra apskaičiuojamas pagal parametą N , kuris nurodo į kiek dalių reikia dalinti kiekvieną biojutiklio sluoksniu, formuojant diskretųjį tinklą. Tuomet programai nurodoma, koku būdu nustatyti kada programa turi baigti simuliaciją, kitaip tariant, kaip nustatyti atsako laiką. Pasirinkti galima iš trijų variantų. Jeigu pasirinkamas variantas iki pusiausvyros nusistovėjimo, tai algoritmas naudoja tokią formulę atsako laikui nustatyti:

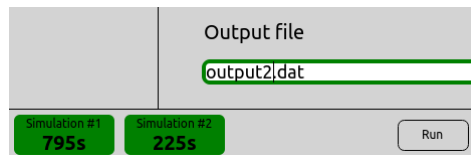
$$t_r = \min_{j(t) > 0} \left\{ t : \frac{t}{j(t)} \left| \frac{dj(t)}{dt} \right| < \varepsilon \right\}, \quad j(t_r) \approx j_{st}, \quad (3.19)$$

čia t_r yra biojutiklio atsako laikas, o ε – gesimo konstanta. Programoje naudojama gesimo konstanta $\varepsilon = 10^{-3}$.

Taip pat galima pasirinkti tokį biojutiklio atsako skaičiavimo būdą, kai t_r skaičiuojama jau minėtuoju būdu, tačiau dydis negali būti mažesnis už nurodytą minimalų laiką t_{min} :

$$t_r = \min_{t \geq t_{min}} \left\{ t : \frac{t}{j(t)} \left| \frac{dj(t)}{dt} \right| < \varepsilon \right\}, \quad j(t_r) \approx j_{st}. \quad (3.20)$$

Trečiuoju būdu galima tiesiog nurodyti atsako laiką t_r . Paskutinis šiame skirsnyje įvedamas parametras nurodo, kokiam faile išsaugoti skaičiavimų rezultatus.



3.11 pav. Lygiagrečiai gali būti paleisti keli skaičiavimai.

Lygiagrečiai galima paleisti keletą skaičiavimų. Tuomet kiekvienas skaičiavimas atliekamas atskiroje gijoje. Tai naudingiausia tuomet, kai kompiuteris turi kelis procesorius ar procesorius turi kelis branduolius. Programos lango apačioje atsiranda indikatoriai, rodantys kiek sekundžių biojutiklio veikimo susimuluota, kaip parodyta 3.11 pav.

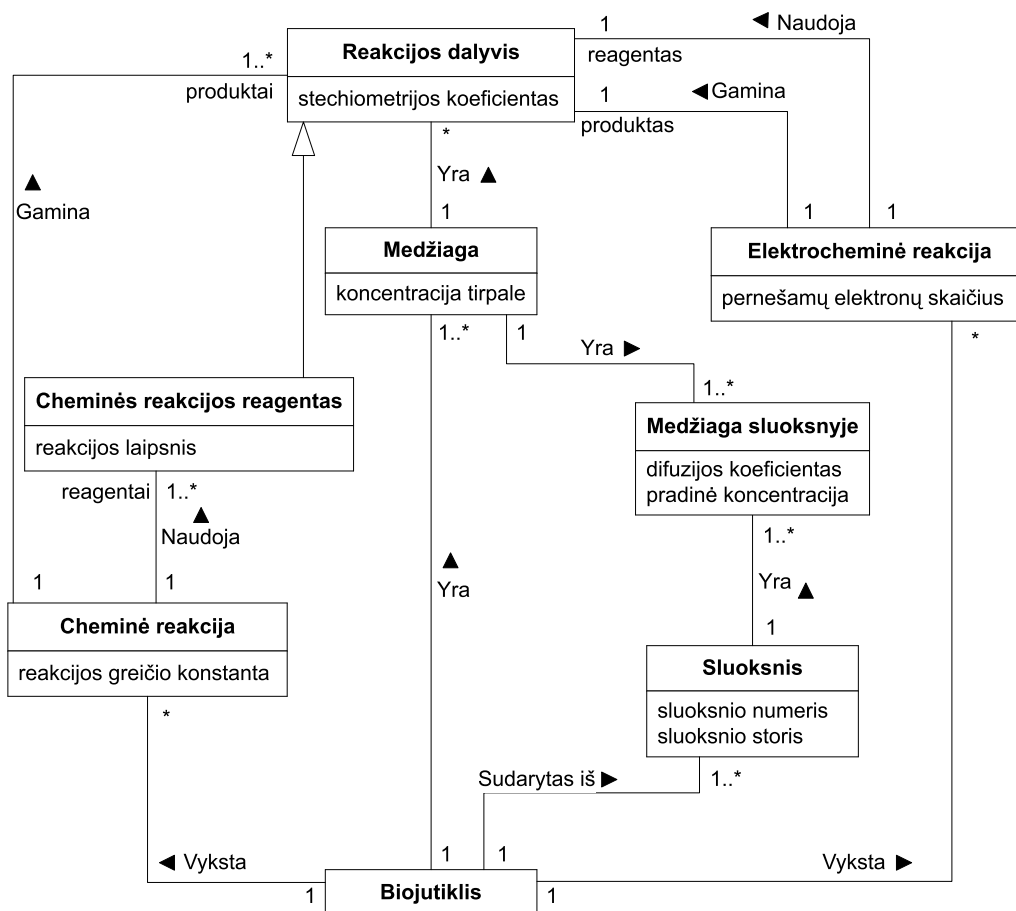
3.2. Universalusis biojutiklio modelis

Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modeliavimui sukurta programinė įranga netinka biojutiklio su substratų sinergija modeliavimui. Šiam tikslui buvo sukurta kita programinė įranga. Šia programine įranga galima modeliuoti žymiai didesnę aibę biojutiklių. Ši aibė apima tiek biojutiklius su inhibicija substratu ir produktu, tiek biojutiklius su substratų sinergija, tačiau tuo neapsiriboja.

3.2.1. Dalykinės srities modelio aprašymas

Prieš kuriant programinę įrangą, buvo sukurtas dalykinės srities modelis (Larman, 2001). Dalykinės srities modelis buvo vizualizuotas UML klasių diagrama, pavaizduota 3.12 pav. (Fowler, 2003; Ambler, 2005).

Šiame modelyje nėra daroma kvazistacionarumo prielaida. Visos medžiagos ir reakcijos yra traktuojamos vienodai. Diagramoje pavaizduotos koncepcinės klasės (koncepto) *Medžiaga* egzemplioriai gali būti tiek smulkios neorganinės medžiagos, tiek stambios organinės medžiagos, pvz. fermentai. Koncepto *Medžiaga* atributas *koncentracija tirpale* nurodo, kokia



3.12 pav. Universalusis dalykinės srities biojutiklio modelis.

pastovi medžiagos koncentracija yra palaikoma tirpale, į kurį yra patalpintas biojutiklis. Ryšys su konceptu *Biojutiklis* nurodo, kad biojutiklyje turi būti bent viena medžiaga.

Analogiškai kaip ir biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu dalykinės srities modelyje, biojutiklis yra sudarytas iš vieno ar daugiau sluoksnių. Koncepto *Sluoksnis* atributas *sluoksniu numeris* skirtas nurodyti, kokiu eiliškumu yra sudėti biojutiklio sluoksniai, pradedant numeruoti nuo uždėto tiesiogiai ant elektrodo.

Apibūdinti medžiagai, patalpintai į biojutiklio sluoksnį, buvo sukurtas *Medžiaga sluoksnyje* konceptas. Šis konceptas turi du atributus. Atributas *difuzijos koeficientas* nurodo medžiagos difuzines savybes sluoksniu terpėje. Sluoksniu terpė turi būti homogeniška ir visame jo tūryje turi būti išlaikytos vienodos medžiagų difuzinės savybės. Antrasis atributas *pradinė koncentracija* nurodo, kokia medžiagos koncentracija atitinkamame biojutiklio sluoksnyje yra pradedant veikti biojutikliui. Imobilizuotas fermentas gali būti modeliuojamas, nurodant difuzijos koeficientą lygų nuliui ir atitinkamą pradinę fermento koncentraciją biojutiklio sluoksnyje.

Koncepto *Medžiaga sluoksnyje* ryšys su *Sluoksniu* konceptu rodo, kad kiekviename biojutiklio sluoksnyje yra daug medžiagų. Tuo tarpu ryšys su *Medžiagos* konceptu rodo, kad ta pati medžiaga yra daugelyje biojutiklio sluoksnių.

Biojutiklyje vyksta reakcijos, kurios yra padalintos į chemines ir elektrochemines. Jas atitinka konceptai *Cheminė reakcija* ir *Elektrocheminė reakcija*. Biojutiklyje gali vykti daug cheminių ir elektrocheminių reakcijų.

Cheminės reakcijos konceptą apibūdina atributas *reakcijos greičio konstanta*. Kiti cheminės reakcijos aspektai yra apibūdinti ryšiais *Naudoja* ir *Gamina*. Kiekviena cheminė reakcija naudoja reagentus ir gamina produktus.

Cheminės reakcijos produktus modelyje atitinka *Reakcijos dalyvio* konceptas. Šis konceptas turi atributą *stechiometrijos koeficientas*, kuris rodo reakcijos dalyvio molinį santykį su kitais reakcijos dalyviais konkrečioje reakcijoje. Kiekviena cheminė reakcija gali gaminti vieną ar daugiau produktų. Reakcijos dalyvis yra medžiaga, todėl *Reakcijos dalyvio* konceptas susietas su *Medžiagos* konceptu ryšiu *Yra*. Medžiaga gali būti kelių reakcijų dalyviu.

Iš *Reakcijos dalyvio* koncepto yra išvestas *Cheminės reakcijos reagento* konceptas, kuris paveldi atributą *stechiometrijos koeficientas*, o taip pat turi papildomą atributą *reakcijos laipsnis*. Pastarasis atributas nurodo, koks yra reakcijos laipsnis pagal konkretų reakcijos reagentą (Connors, 1990). *Cheminės reakcijos* konceptas yra susietas ryšiu *Naudoja* kaip tik su šiuo išvestiniu reakcijos dalyvio konceptu.

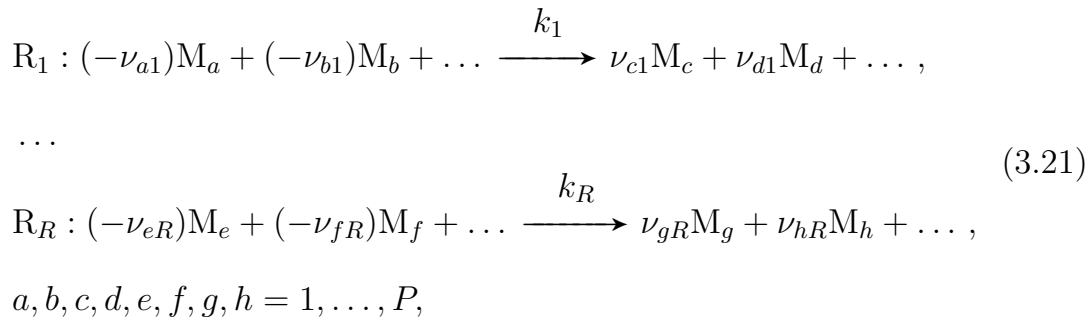
Tais atvejais, kai cheminė reakcija yra grįžtamoji, modelyje turi būti du *Cheminės reakcijos* koncepto egzemplioriai. Šie egzemplioriai turi atitikti tiesioginę ir grįžtamąją reakcijas.

Biojutiklyje gali vykti kelios elektrocheminės reakcijos. *Elektrocheminės reakcijos* konceptas turi atributą *pernešamų elektronų skaičius*. Visų elektrocheminių reakcijų greičiai šiame modelyje laikomi begaliniais ir reakcijos yra negrįžtamosios. T.y. laikoma, kad elektrodo potencialas parinktas tokiu būdu, kad visas reagentas, patekęs ant elektrodo, iš karto sureaguoja ir virsta produktu. *Elektrocheminės reakcijos* koncepto ryšiai *Naudoja* ir *Gamina* su *Reakcijos dalyvio* konceptu rodo, kad kiekviena elektrocheminė reakcija šiame modelyje turi vieną reagentą ir vieną produktą.

3.2.2. Matematinis modelis

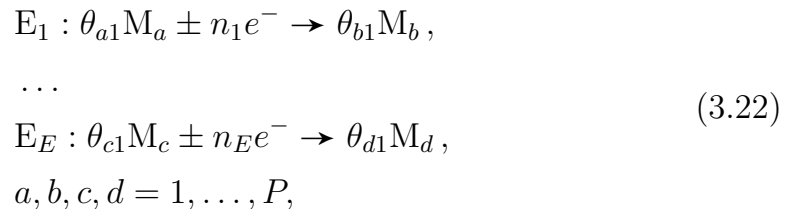
Pagal apibendrintąjį dalykinės srities modelį, sudarykime apibendrintąjį matematinį biojutiklio modelį.

Sakykime, kad cheminėse ar elektrocheminėse reakcijose dalyvaujančių medžiagų yra P (reakcijų dalyviais vadinsime tiek reakcijų reagentus, tiek reakcijų produktus). Pažymėkime jas M_1, M_2, \dots, M_P . Biojutiklyje vyksta tam tikras skaičius R cheminių reakcijų. Pažymėkime jas R_1, R_2, \dots, R_R :



čia k_1, \dots, k_R yra reakcijų greičio konstantos, ν_{pm} yra medžiagos M_p stochiometrijos koeficientas reakcijoje R_n , kairėje lygties pusėje esantys koeficientai yra neigiami, o dešinėje pusėje – teigiami. Jeigu medžiaga M_p nedalyvauja reakcijoje R_n , tai $\nu_{pn} = 0$. Ta pati medžiaga negali būti ir kairėje, ir dešinėje reakcijos lygties pusėje. Ta pati medžiaga gali dalyvauti keliose reakcijose, tiek kaip reagentas, tiek kaip reakcijos produktas.

Biojutiklyje vyksta tam tikras fiksuotas skaičius E elektrocheminių reakcijų. Pažymėkime jas E_1, E_2, \dots, E_E :



čia θ_{pl} yra medžiagos M_p stochiometrijos koeficientas elektrocheminėje reakcijoje E_l . Jeigu medžiaga M_p nedalyvauja elektrocheminėje reakcijoje E_l , tai $\theta_{pl} = 0$. n_l yra elektrocheminės reakcijos E_l metu pernešamų elektronų skaičius. Reakcijos E_1, \dots, E_E gali būti tiek anodinės, tiek katodinės. Ta pati medžiaga negali dalyvauti daugiau nei vienoje elektrocheminėje reakcijoje.

Naudodami Antrąjį Fiko dėsnį ir Veikiančiųjų masių dėsnį, galime apibrėžti medžiagų koncentracijų dinamiką, sudarydami reakcijos-difuzijos lyg-

tis:

$$\frac{\partial m_p^{(l)}}{\partial t} = D_{M_p}^{(l)} \frac{\partial^2 m_p^{(l)}}{\partial x^2} + \sum_{n=1}^R \nu_{pn} k_n \prod_{r=1}^P (m_r^{(l)})^{\alpha_{nr}}, \quad (3.23)$$

$$x \in (a_{l-1}, a_l), \quad a_l = a_{l-1} + d_l, \quad p = 1, \dots, P, \quad l = 1, \dots, L,$$

čia x ir t yra atitinkamai atstumas nuo elektrodo ir laikas, $m_p^{(l)}(x, t)$ yra medžiagos M_p koncentracija l -ajame biojutiklio sluoksnyje, d_l yra l -ojo sluoksnio storis, a_l yra l -ojo ir $(l+1)$ -ojo sluoksnio sandūra, $a_0 = 0$. $D_{M_p}^{(l)}$ yra medžiagos M_p difuzijos koeficientas l -ajame sluoksnyje, L yra biojutiklio sluoksnių skaičius, α_{np} yra reakcijos R_n laipsnis pagal medžiagą M_p . Jeigu medžiaga M_p nėra reakcijos R_n reagentas, tuomet $\alpha_{np} = 0$.

Laikykite, kad $x = a_0$ yra elektrodo paviršius, o $x = a_L$ yra paskutiniojo biojutiklio sluoksnio sandūra su tirpalu. Pradiniu laiko momentu bet kuriame biojutiklio sluoksnyje gali būti tam tikra medžiagos koncentracija. Tokiu būdu galima apibrėžti fermento koncentraciją fermento sluoksnyje. Jeigu modeliuojamasis sluoksnis yra difuzijos sluoksnis, tai šiame sluoksnyje pradiniu laiko momentu apibrėžus koncentracijas, lygias medžiagų koncentracijoms tirpale, bus modeliuojamas atvejis, kai biojutiklis yra įmerkiamas į jau paruoštą tirpalą. Apibrėžkite pradines sąlygas tokiu būdu ($t = 0$):

$$\begin{aligned} m_p^{(l)}(x, 0) &= m_{p0}^{(l)}, \quad x \in [a_{l-1}, a_l], \quad l = 1, \dots, L-1, \\ m_p^{(L)}(x, 0) &= m_{p0}^{(L)}, \quad x \in [a_{L-1}, a_L], \\ m_p^{(L)}(a_L, 0) &= m_{p0}, \\ p &= 1, \dots, P, \end{aligned} \quad (3.24)$$

čia m_{p0} yra medžiagos M_p koncentracija tirpale, o $m_{p0}^{(l)}$ yra medžiagos M_p koncentracija l -ajame sluoksnyje pradiniu laiko momentu.

Elektrodo paviršiuje medžiagos elgiasi skirtingai. Tai priklauso nuo to, ar medžiaga dalyvauja elektrocheminėje reakcijoje, ar ne, taip pat, ar ji yra elektrocheminės reakcijos reagentas, ar produktas. Elektrocheminių reakcijų reagentai ant elektrodo paviršiaus sureaguoja, ir jų koncentracija tampa lygi nuliui. Apibrėžkite tai tokiomis kraštinėmis sąlygomis ($t > 0$):

$$m_p^{(1)}(0, t) = 0, \quad p : M_p \in \mathcal{R}, \quad (3.25)$$

čia \mathcal{R} yra elektrocheminių reakcijų reagentų aibė.

Elektrocheminių reakcijų produktai yra gaminami ant elektrodo paviršiaus, o jų srautai elektrodo paviršiuje turi būti lygūs atitinkamų reagentų

srautams elektrodo paviršiuje, tik su priešingu ženklui. Tai apibūrinama tokiomis kraštinėmis sąlygomis ($t > 0$):

$$\theta_{rl} D_{M_p}^{(1)} \frac{\partial m_p^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = -\theta_{pl} D_{M_r}^{(1)} \frac{\partial m_r^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0}, \quad (3.26a)$$

$$p : M_p \in \mathcal{E}_l, M_p \in \mathcal{P}, \quad r : M_r \in \mathcal{E}_l, M_r \in \mathcal{R}, \quad l = 1, \dots, E, \quad (3.26b)$$

čia \mathcal{P} yra elektrocheminių reakcijų produktų aibė, \mathcal{E}_l yra elektrocheminės reakcijos E_l dalyvių (reagentų ir produktų) aibė.

Jeigu medžiaga nereaguoja elektrocheminėse reakcijose ir nėra jų produktas, tuomet medžiagai ant elektrodo paviršiaus taikoma nepratekėjimo sąlyga ($t > 0$):

$$D_{M_p}^{(1)} \frac{\partial m_p^{(1)}}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0, \quad p : M_p \notin \mathcal{R} \cup \mathcal{P}. \quad (3.27)$$

Sluoksnių sandūrose apibūriname derinimo sąlygas ($t > 0$):

$$D_{M_p}^{(l)} \frac{\partial m_p^{(l)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l} = D_{M_p}^{(l+1)} \frac{\partial m_p^{(l+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l}, \quad (3.28a)$$

$$m_p^{(l)}(a_l, t) = m_p^{(l+1)}(a_l, t), \quad (3.28b)$$

$$p = 1, \dots, P, \quad l = 1, \dots, L - 1.$$

Šios derinimo sąlygos apibūrina, kad iš l -ojo sluoksnio išeinantys medžiagų srautai yra lygūs į $(l+1)$ -ąjį sluoksnį įeinantiems srautams, o medžiagų koncentracija ties sluoksnių sandūra yra vienoda abiejuose sluoksniuose. Jeigu l -asis sluoksnis yra pusiau laidži membrana, ir, tarkime, medžiaga M_p negali pro šį sluoksnį pratekėti ($D_{M_p}^{(l)} = 0$), tokiu atveju derinimo sąlyga (3.28a) pavirs į nepratekėjimo sąlygą:

$$D_{M_p}^{(l+1)} \frac{\partial m_p^{(l+1)}}{\partial x} \Big|_{x=a_l} = 0. \quad (3.29)$$

Laikysime, kad paskutiniojo biojutiklio sluoksnio sandūroje su tirpalu, medžiagų koncentracija visą laiką išlaikoma pastovia ($t > 0$):

$$m_p^{(L)}(a_L, t) = m_{p0}, \quad p = 1, \dots, P. \quad (3.30)$$

Biojutiklio srovės tankis apskaičiuojamas, naudojantis Faradėjaus ir Pirmuoju Fiko dėsniumi (Baronas ir kt., 2010):

$$j(t) = \sum_{\substack{1 \leq l \leq E \\ p: M_p \in \mathcal{E}_l, M_p \in \mathcal{R}}} \frac{1}{\theta_{pl}} n_l F D_{M_p}^{(1)} \left. \frac{\partial m_p^{(1)}}{\partial x} \right|_{x=0}, \quad (3.31)$$

čia $j(t)$ yra srovės tankis, F – Faradėjaus konstanta.

Stacionariosios biojutiklio srovės tankį j_{st} apibrėžkime tokiu būdu:

$$j_{st} = \lim_{t \rightarrow \infty} j(t). \quad (3.32)$$

3.2.3. Skaitinis modelis

Pagal ankstesniajame skirsnyje sudarytą apibendrintąjį biojutiklio matematinį modelį, sudarykime skaitinį modelį.

Tam, kad skaitiškai išspręstume mišrųjį uždavinį (3.23) – (3.30), pradžioje reikia ant srities $[a_0, a_L] \times [0, T]$ uždėti diskretųjį tinklą (T yra biojutiklio veikimo trukmė). Diskretųjį tinklą sudarykime analogiškai kaip 3.1.3 skirsnyje:

$$\begin{aligned} \omega_h^{(l)} &= \{x_i^{(l)} : x_i^{(l)} = a_{l-1} + ih_l, \quad i = 0, \dots, N, \quad x_N^{(l)} = a_l\}, \\ \omega_\tau &= \{t_j : t_j = j\tau, \quad j = 0, \dots, M, \quad t_M = T\}, \\ l &= 1, \dots, L, \end{aligned} \quad (3.33)$$

čia h_l yra erdvės žingsnis l -ajame biojutiklio sluoksnyje, τ yra žingsnis pagal laiką.

Pažymėkime medžiagų koncentracijas diskrečiojo tinklo mazguose tokiu būdu:

$$M_{ij}^{p,(l)} = m_p^{(l)}(x_i^{(l)}, t_j), \quad (3.34a)$$

$$i = 0, \dots, N, \quad j = 0, \dots, M, \quad l = 1, \dots, L, \quad p = 1, \dots, P. \quad (3.34b)$$

Lygtys (3.23) verčiamos į tokias skirtumines lygtis:

$$\begin{aligned} \frac{M_{i,j+1}^{p,(l)} - M_{ij}^{p,(l)}}{\tau} &= D_{M_p}^{(l)} \frac{M_{i+1,j}^{p,(l)} - 2M_{ij}^{p,(l)} + M_{i-1,j}^{p,(l)}}{h_l^2} + \\ &+ \sum_{n=1}^R \nu_{pn} k_n \prod_{r=1}^M (M_{ij}^{r,(l)})^{\alpha_{nr}}, \end{aligned} \quad (3.35)$$

$$i = 1, \dots, N - 1, \quad j = 0, \dots, M - 1, \quad l = 1, \dots, L, \quad p = 1, \dots, M.$$

Pradinės sąlygos (3.24) keičiamos tokiu būdu:

$$\begin{aligned} M_{i0}^{p,(l)} &= m_{p0}^{(l)}, \quad i = 0, \dots, N, \quad l = 1, \dots, L - 1, \\ M_{i0}^{p,(L)} &= m_{p0}^{(L)}, \quad i = 0, \dots, N - 1, \\ M_{N0}^{p,(L)} &= m_{p0}, \\ p &= 1, \dots, P. \end{aligned} \tag{3.36}$$

Kraštinės sąlygos, apibrėžiančios elektrocheminių reakcijų reagentų koncentraciją ant elektrodo paviršiaus (3.25), perrašomos taip:

$$M_{0j}^{p,(1)} = 0, \quad p : M_p \in \mathcal{R}, \quad j = 1, \dots, M. \tag{3.37}$$

Kraštinės sąlygos (3.26) aproksimuojamos tokiu būdu:

$$\begin{aligned} \theta_{rl} D_{M_p}^{(1)} \frac{M_{1j}^{p,(1)} - M_{0j}^{p,(1)}}{h_1} &= -\theta_{pl} D_{M_r}^{(1)} \frac{M_{1j}^{r,(1)} - M_{0j}^{r,(1)}}{h_1}, \\ l &= 1, \dots, E, \quad j = 1, \dots, M, \\ p : M_p \in \mathcal{E}_l, M_p \in \mathcal{P}, \quad r : M_r \in \mathcal{E}_l, M_r \in \mathcal{R}. \end{aligned} \tag{3.38}$$

Nepratekėjimo sąlygos (3.27) aproksimuojamos taip:

$$D_{M_p}^{(1)} \frac{M_{1j}^{p,(1)} - M_{0j}^{p,(1)}}{h_1} = 0, \quad p : M_p \notin \mathcal{R} \cup \mathcal{P}, \quad j = 1, \dots, M. \tag{3.39}$$

Derinimo sąlygos (3.28) aproksimuojamos tokiais skirtuminėmis lygtimis:

$$\begin{aligned} D_{M_p}^{(l)} \frac{M_{Nj}^{p,(l)} - M_{N-1,j}^{p,(l)}}{h_l} &= D_{M_p}^{(l+1)} \frac{M_{1j}^{p,(l+1)} - M_{0j}^{p,(l+1)}}{h_{l+1}}, \\ M_{Nj}^{p,(l)} &= M_{0j}^{p,(l+1)}, \\ p &= 1, \dots, P, \quad l = 1, \dots, L - 1, \quad j = 1, \dots, M. \end{aligned} \tag{3.40}$$

Ant modeliuojamos srities krašto su tirpalu apibrėžtos kraštinės sąlygos (3.30) perrašomos taip:

$$M_{Nj}^{p,(L)} = m_{p0}, \quad p = 1, \dots, P, \quad j = 1, \dots, M. \tag{3.41}$$

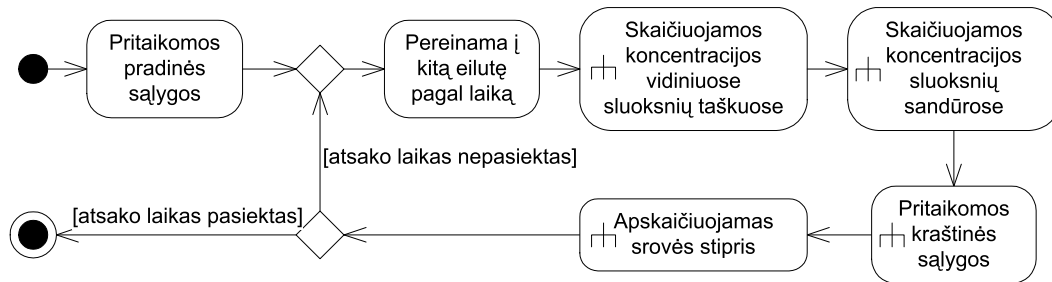
Išsprendus skaitinį uždavinį, randamos medžiagų koncentracijos diskrečiojo tinklo mazguose. Naudojantis šiomis reikšmėmis, galima apskaičiuoti

biojutiklio generuojamos srovės tankį. Aproximuojame (3.31) formulę:

$$j(t_j) = \sum_{\substack{1 \leq l \leq E \\ p: M_p \in \mathcal{E}_l, M_p \in \mathcal{R}}} \frac{1}{\theta_{pl}} n_l F D_{M_p}^{(1)} \frac{M_{1j}^{p,(1)} - M_{0j}^{p,(1)}}{h_1}, \quad j = 0, \dots, M. \quad (3.42)$$

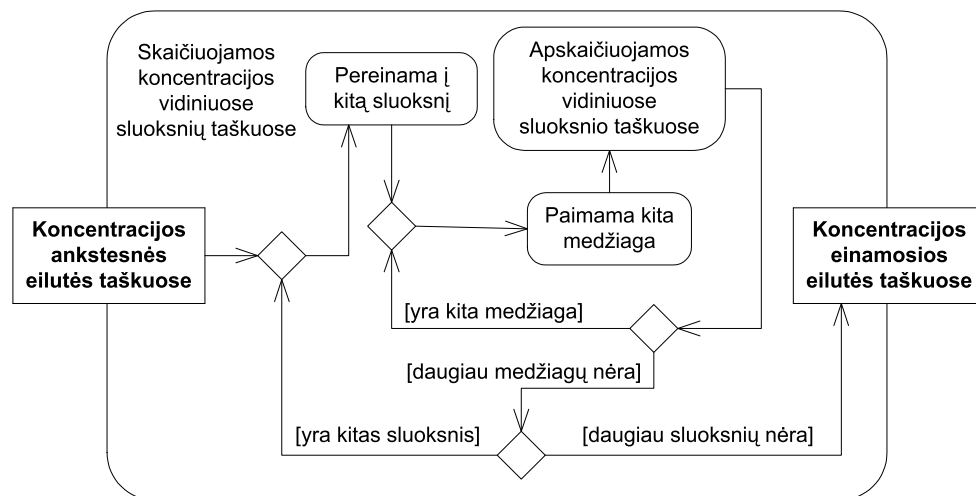
3.2.4. Skaičiavimų algoritmai

Skaičiavimai atliekami baigtinių skirtumų metodu, naudojant išreikštinę schemą. Algoritmas pateiktas UML veiklų diagramos pavidalu 3.13 pav.



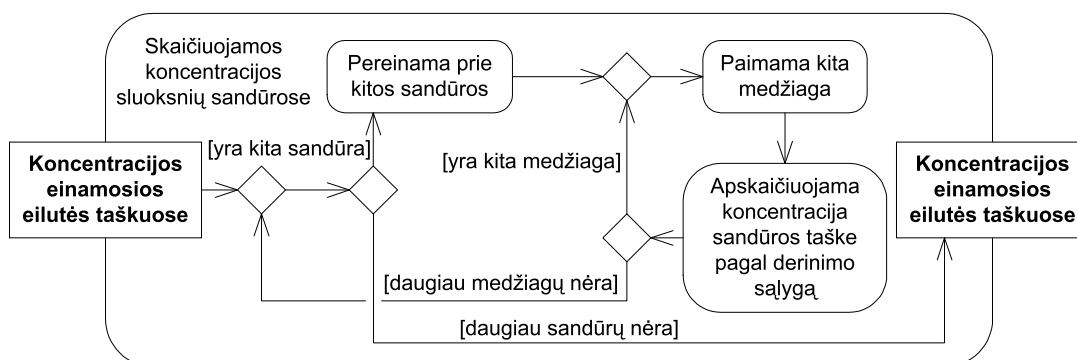
3.13 pav. Uždavinio sprendimas baigtinių skirtumų metodu pagal išreikštinę schemą.

Bendras algoritmas skaitiniam uždaviniui spręsti pagal išreikštinę schemą yra analogiškas kaip ir naudotas biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu atveju, tačiau universaliu biojutiklio modeliu galima apibrėžti neribotą skaičių medžiagų, reakcijų, reakcijos reagentų ir produktų, o taip pat biojutiklio sluoksnių. Tai algoritmą daro sudėtingesniu, todėl keturios veiklos iš diagramos 3.13 pav. bus detalizuotos smulkiau papildomomis diagramomis 3.14 pav., 3.15 pav., 3.16 pav. ir 3.17 pav.



3.14 pav. Koncentracijų vidiniuose sluoksnių taškuose skaičiavimas.

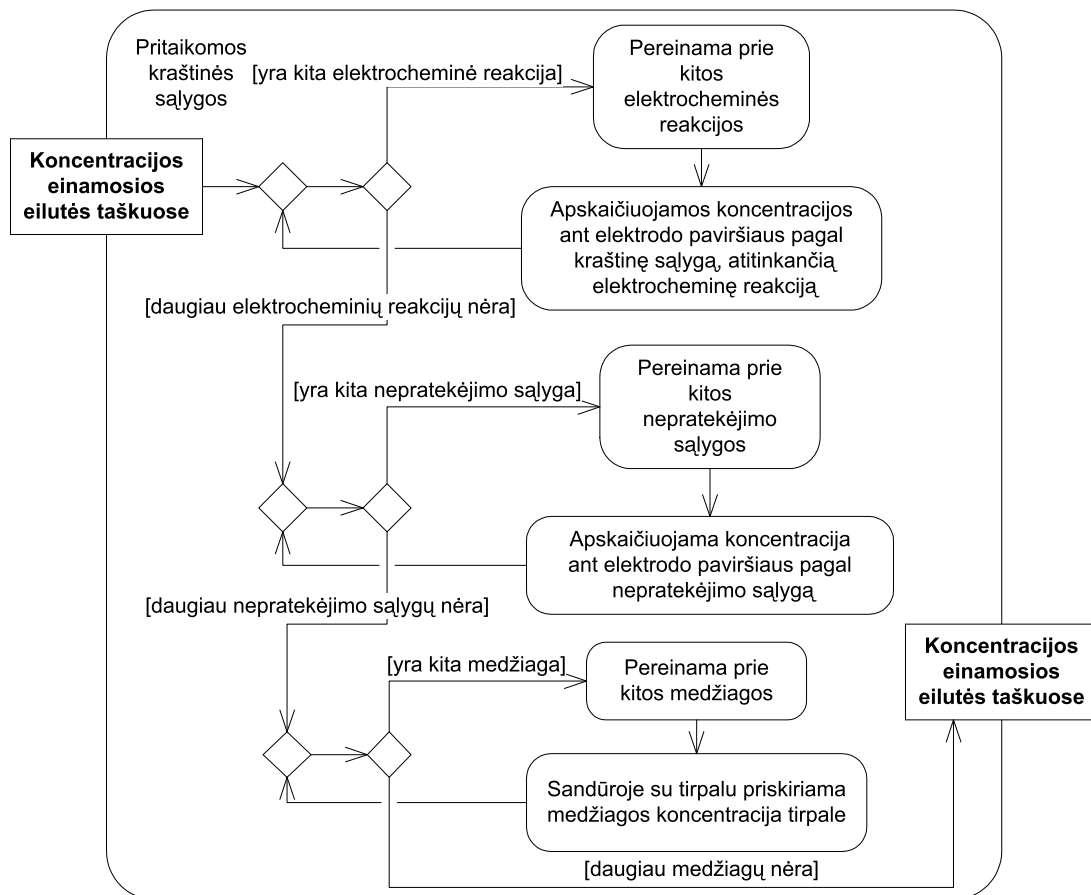
Kaip skaičiuojamos koncentracijos vidiniuose sluoksnių taškuose, detalizuota diagramoje, pavaizduotoje 3.14 pav. Kaip matome iš diagramos, algoritmas naudoja koncentracijas ankstesnės eilutės taškuose kaip pradinius duomenis. Remiantis dalykinės srities modeliu, biojutiklis visada turi bent vieną sluoksnį, todėl be tikrinimo, ar dar yra sluoksnių, paimamas pirmasis biojutiklio sluoksnis. Tuomet paimama pirmoji medžiaga. Kadangi dalykinės srities modelis numato, kad biojutiklyje yra bent viena medžiaga, imant pirmąją medžiagą joks tikrinimas neatliekamas. Tuomet šiai medžiagai einamajame sluoksnyje apskaičiuojamos koncentracijos. Toliau tikrinama, ar yra daugiau medžiagų, ir tokios iteracijos kartojamos kiekvienai medžiagai. Kai medžiagos pasibaigia, atliekamas tikrinimas, ar dar yra sluoksnių. Jeigu yra daugiau sluoksnių, kartojamos iteracijos pereinant per visus sluoksnius. Jeigu daugiau sluoksnių nėra, algoritmas baigia darbą, o jo rezultatas yra suskaičiuotos medžiagų koncentracijos einamojoje diskrečiojo tinklo eilutėje.



3.15 pav. Koncentracijų sluoksnių sandūrose skaičiavimas.

Diagrama 3.15 pav. parodo, kaip yra skaičiuojamos koncentracijos sluoksnių sandūrose. Algoritmas kaip pradinius duomenis naudoja koncentracijas einamosios eilutės taškuose. Patikrinama, ar yra bent viena sandūra, ir paimama pirmoji sluoksnių sandūra. Tuomet iteruojama per medžiagas ir pagal derinimo sąlygas apskaičiuojamos šių medžiagų koncentracijos einamojoje sandūroje. Kai medžiagos pasibaigia, tikrinama ar yra kita sandūra. Jeigu kita sandūra yra, ciklas kartojamas, iteruojant per sluoksnių sandūras. Kai sandūros pasibaigia, algoritmas baigia darbą.

Diagrama, pavaizduota 3.16 pav., detalizuoja, kaip pritaikomos kraštinės sąlygos. Pradiniais duomenimis, algoritmas naudoja koncentracijas einamosios eilutės taškuose. Pirmiausia iteruojama per elektrochemines reakcijas ir pritaikomos kraštinės sąlygos, atitinkančios šias elektrochemines reakcijas. Šiame biojutiklio modelyje laikoma, kad elektrocheminių reakcijų



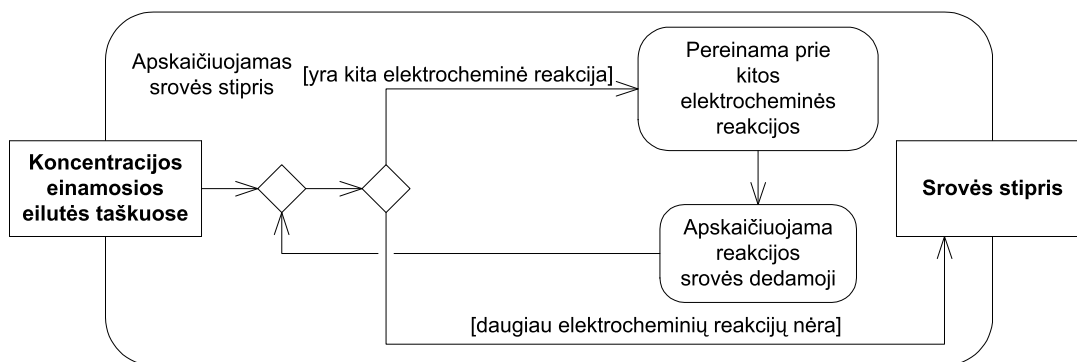
3.16 pav. Koncentracijų srities kraštuose skaičiavimas.

reagentai ant elektrodo visiškai sureaguoja, todėl jų koncentracijos prilyginamos 0. Tuo tarpu elektrocheminių reakcijų produktų srautai ant elektrodo paviršiaus yra prilyginami reagentų srautams ant elektrodo paviršiaus, tik su priešingu ženklu.

Toliau iteruojama per nepratekėjimo sąlygas. Medžiagų, kurioms taikomos nepratekėjimo sąlygos, koncentracijos ant elektrodo paviršiaus prilyginamos koncentracijoms gretimame taške.

Toliau pritaikomos kraštinės sąlygos, nurodančios medžiagų koncentracijas paskutiniojo sluoksnio sandūroje su tirpalu. Kadangi šiame modelyje nagrinėjamos tik kraštinės sąlygos, nustatančios fiksuotą medžiagų koncentraciją, tai algoritmas sukurtas tokiu būdu, kad šios koncentracijos priskiriamos tik vieną kartą skaičiavimų pradžioje.

Ketvirtojoje diagramoje 3.17 pav. detalizuotas srovės stiprio apskaičiavimo algoritmas. Algoritmo pradiniais duomenimis yra medžiagų koncentracijos einamosios eilutės taškuose. Algoritmas iteruoja per elektrochemines reakcijas ir apskaičiuoja kiekvienos elektrocheminės reakcijos dedamąją į biojutiklio generuojamą srovę. Srovės stipris skaičiuojamas, atsižvelgiant



3.17 pav. Srovės stiprio skaičiavimas.

į reakcijos reagento srautą elektrodo paviršiuje, į reagento stechiometrijos koeficientą ir pernešamų elektronų skaičių.

3.2.5. Programinė įranga

Programinė įranga, skirta spręsti universaliojo biojutiklio modelio uždaviniui, analogiškai kaip ir skirtoji spręsti biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu modeliavimo uždaviniui, sudaryta iš dviejų komponentų, kaip pavaizduota UML komponentų diagramoje 3.6 pav.

Komponentas *Kalkulatorius* buvo realizuotas atskira dinamine biblioteka `libuniversal_calculator.so`. Siekiant našumo, dinaminė biblioteka įgyvendinta C programavimo kalba (Press ir kt., 1992). Ši dinaminė biblioteka yra atvirojo kodo, viešai prieinama [github.com](https://github.com/dainiussimelevicius/Universal-Calculator-Library.git) tinklalapyje adresu: <https://github.com/dainiussimelevicius/Universal-Calculator-Library.git>.

3.3. Apibendrinimas

Šiame skyriuje buvo pristatyti apibendrinti dalykinės srities biojutiklių modeliai. Pagal šiuos modelius buvo sudaryti atitinkami apibendrintieji biojutiklių matematiniai ir skaitiniai modeliai. Pristatyti algoritmai, naudojami skaitinių uždavinių sprendimui. Aprašytas programinės įrangos veikimas bei architektūra.

4 skyrius

Skaitinis biojutiklių savybių tyrimas

Šiame skyriuje buvo patvirtintas 2 skyriuje pristatytų matematinių biojutiklių modelių teisingumas. Naudojant programinę įrangą, pristatytą 3 skyriuje, kompiuterinio modeliavimo eksperimentais iširtos biojutiklių savybės ir elgsena.

4.1. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu skaitinis savybių tyrimas

Naudojant sukurta programinę įrangą, buvo atlikti skaitiniai eksperimentai ir iširtos biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu veikimo subtilybės, esant skirtingiems modelio parametrų. Šiame poskyryje bus naudojami žymenys, įvesti 2.1 poskyryje.

4.1.1. Kompiuterinio modeliavimo eksperimentai

Kompiuteriniuose biojutiklio modeliavimo eksperimentuose paprastai biojutiklio atsako laiku yra laikomas toks momentas, kai biojutiklio atsako pokytis tampa labai menku, lyginant su prabėgusiu laiku. Tiriant biojutiklį su inhibicija substratu ir produktu, šios sąlygos nepakanka, nes biojutiklio atsako priklausomybė nuo laiko gali turėti lokalių maksimumą, ties kuriuo atsako pokytis per laiko vienetą yra lygus 0. Šiai problemai išspręsti buvo apibrėžtas minimalus atsako laikas. Skaitiniuose eksperimentuose biojutiklio atsako laikas buvo apskaičiuojamas pagal (3.20) formulę. Naudotas minimalus biojutiklio atsako laikas $t_{min} = 5000s$, o gesimo konstanta $\varepsilon = 10^{-3}$.

Tokios parametrų reikšmės buvo naudojamos visuose skaitiniuose eksperimentuose:

$$\begin{aligned} D_{s_e} = D_{p_e} = 100 \mu\text{m}^2/\text{s}, \quad D_{s_d} = D_{p_d} = 200 \mu\text{m}^2/\text{s}, \\ K_M = 0,01 \text{ mol/l}, \quad d_e = 10 \mu\text{m}, \quad n_e = 1. \end{aligned} \quad (4.1)$$

Matematinis modelis ir skaitiniai sprendiniai buvo validuoti, palyginus su žinomu analiziniu sprendiniu dviejų sluoksnių amperometriniam biojutikliui (Schulmeister, 1990). Sprendžiant uždavinį analiziškai, turi būti padarytos kelios prielaidos ir modelio supaprastinimas (Baronas ir Kulys, 2008). Pirmiausia yra laikoma, kad biojutiklyje nevyksta nei inhibicija substratu, nei produktu ($K_s \rightarrow \infty, K_p \rightarrow \infty$). Taip galima supaprastinti biokatalizės reakcijos greičio išraišką (2.17):

$$v(s_e, p_e) \approx \frac{V_{max} s_e}{K_M + s_e}. \quad (4.2)$$

Laikant, kad biokatalitinės reakcijos greitis yra lygus (4.2), mišrusis uždavinys (2.5)-(2.10), (2.18) gali būti išspręstas analiziškai, kai reakcijos greičio funkcija (4.2) supanašėja į tiesinę funkciją (Schulmeister, 1990). Esant mažoms substrato koncentracijoms $s_0 \ll K_M$, reakcijos greičio funkcija įgyja tiesinį pavidalą:

$$v(s_e, p_e) \approx \frac{V_{max} s_e}{K_M}. \quad (4.3)$$

Laikant, kad biokatalitinės reakcijos greitis yra lygus (4.3), stacionariosios biojutiklio srovės tankis yra išreiškiamas tokiu būdu (Schulmeister, 1990):

$$i_{st} = n_e F D_{p_e} s_0 \frac{1}{d_e + d_d} \left(d_e + d_d \times \frac{D_{s_d} - \sigma D_{s_e} \sinh \sigma / \cosh \sigma}{D_{s_d} + \sigma D_{s_e} (d_d/d_e) \sinh \sigma / \cosh \sigma} \right) \times \\ \times \left(\frac{\sigma D_{s_e} d_d}{d_e} \times \frac{\sinh \sigma}{\cosh \sigma} + \frac{D_{s_e} D_{p_d}}{D_{p_e}} \left(1 - \frac{1}{\cosh \sigma} \right) \right) / (D_{p_d} d_e + D_{p_e} d_d). \quad (4.4)$$

Mišriojo uždavinio (2.5)-(2.10), (2.18) skaitinis sprendinys buvo palygintas su analiziniu sprendiniu (4.4). Buvo naudojamos parametrų reikšmės, kaip nurodyta (4.1), o kitų parametrų reikšmės buvo tokios: $K_s = K_p = 10^4 \text{ mol/l}$, $V_{max} = 0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $s_0 = 10^{-4} \text{ mol/l} = 0,01 K_M$ ir $d_d = 300 \text{ } \mu\text{m}$. Santykinis skirtumas tarp skaitinio ir analizinio sprendinio sudarė mažiau nei 0,04 %.

Esant aukštoms substrato koncentracijoms $s_0 \gg K_M$, reakcijos greičio funkcija taip pat įgyja tiesinį pavidalą:

$$v(s_e, p_e) \approx V_{max}. \quad (4.5)$$

Šiam ribiniam atvejui, kai modeliuojamas tik fermento sluoksnis, yra žinomas analizinis sprendinys. Stacionariosios biojutiklio srovės tankis yra

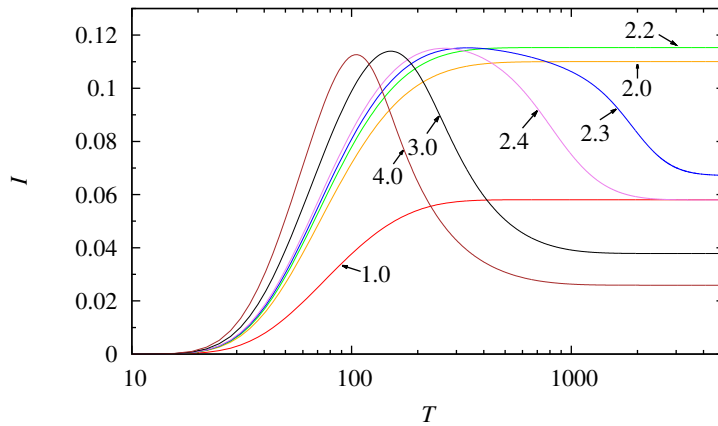
išreiškiamas taip (Bowers ir Carr, 1980; Schulmeister, 1990):

$$i_{st} = \frac{n_e F V_{max} d_e}{2}. \quad (4.6)$$

Mišriojo uždavinio (2.5)-(2.10), (2.18) skaitinis sprendinys buvo palygintas su analiziniu sprendiniu (4.6). Biojutiklio parametrų reikšmės buvo laikomos tokiomis, kaip pateikta (4.1), o kitų parametrų reikšmės buvo tokios: $K_s = K_p = 10^4 \text{ mol/l}$, $V_{max} = 0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $s_0 = 1 \text{ mol/l} = 100K_M$ ir $d_d = 0,1 \text{ }\mu\text{m}$. Santykinis skirtumas tarp skaitinio ir analizinio sprendinio sudarė apie 1 %.

4.1.2. Biojutiklio atsako dinamika

4.1 pav. pavaizduotas biojutiklio srovės kitimas laike. Biojutiklio veikimas buvo modeliuotas, esant skirtingoms substrato koncentracijoms ($1 \leq S_0 \leq 4$), esant vidutinio dydžio difuzijos moduliui ($\sigma^2 = 1$), esant vidutiniams inhibicijos substratu ir produktu konstantų dydžiams ($\hat{K}_s = 0,1$, $\hat{K}_p = 0,1$) bei difuzijos sluoksnio storiui $\delta_d = 30$.



4.1 pav. Biojutiklio atsako dinamika, esant skirtingoms substrato koncentracijoms. Skaičiai prie kreivių rodo substrato koncentraciją S_0 . Kitų parametrų dydžiai buvo tokie: $\sigma^2 = 1$, $\hat{K}_s = 0,1$, $\hat{K}_p = 0,1$, $\delta_d = 30$.

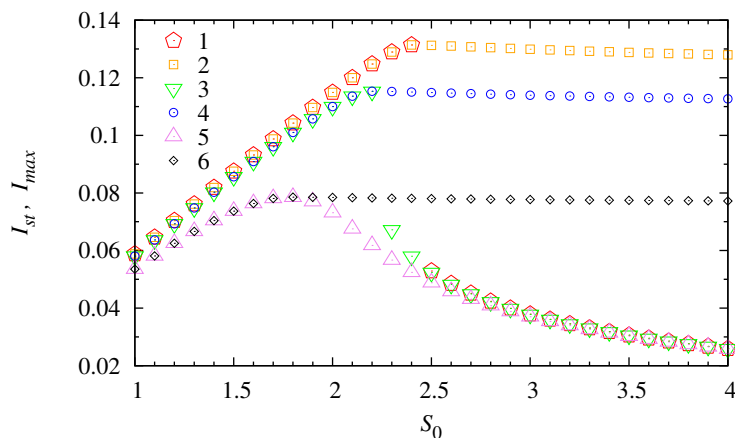
Esant vidutinėms substrato koncentracijoms ($S_0 \leq 2,2$), bedimensė biojutiklio srovė I yra monotoniškai didėjanti funkcija nuo bedimensio laiko T . Tačiau esant sąlyginai aukštoms substrato koncentracijoms ($S_0 > 2,2$), srovė I tampa nemonotoniška funkcija nuo laiko T . Tuo atveju, kai $S_0 = 4$, maksimali biojutiklio srovė yra netgi 4,3 karto aukštesnė už stacionariąją srovę. Visais atvejais, kai biojutiklio srovė yra nemonotoniška ($S_0 > 2,2$), maksimaliosios biojutiklio srovės yra beveik vienodos.

Skaitiniai eksperimentai rodo, kad maksimaliosios biojutiklio srovės atsiradimas, esant aukštomis substrato koncentracijoms, yra susijęs su inhibicija substratu. Kai nėra inhibicijos substratu, paprastai biojutiklio atsako nemonotoniškumas nepasireiškia (Gutfreund, 1995; Cornish-Bowden, 2004; Kernevez, 1980; Schulmeister, 1990; Kulys ir Baronas, 2006; Petrauskas ir Baronas, 2012).

Iš kreivių, pavaizduotų 4.1 pav., galime pastebėti dar vieną svarbų sąryšį: stacionarioji biojutiklio srovė I_{st} didėja, didinant substrato koncentraciją tirpale S_0 , tačiau tik esant mažoms substrato koncentracijoms ($S_0 \leq 2,2$), tuo tarpu esant aukštomis substrato koncentracijoms, didinant substrato koncentraciją, stacionarioji srovė mažėja. Šis sąryšis bus detalčiau ištirtas tolesniame skirsnyje.

4.1.3. Biojutiklio atsako priklausomybė nuo substrato koncentracijos

Buvo tirta maksimalios ir stacionariosios biojutiklio srovės priklausomybė nuo substrato koncentracijos, esant fiksuotam inhibicijos substratu konstantos dydžiui ($\hat{K}_s = 0,1$) ir skirtingiems inhibicijos produktu dydžiams. Biojutiklio atsakas buvo tiriamas, esant sąlyginai didelei inhibicijai produktu ($\hat{K}_p = 0,01$), esant vidutinei inhibicijai produktu ($\hat{K}_p = 0,1$) ir tuo atveju, kai inhibicija produktu apskritai nevyksta ($\hat{K}_p \rightarrow \infty$). Nevykstant inhibicijai produktu, reakcijų schema (2.1)-(2.3) supaprastėja iki reakcijų schemas (2.1)-(2.2). 4.2 pav. parodyta maksimaliosios I_{max} ir stacionariosios I_{st} srovės priklausomybė nuo substrato koncentracijos S_0 .



4.2 pav. Maksimaliosios I_{max} (2, 4, 6) ir stacionariosios I_{st} (1, 3, 5) biojutiklio srovės priklausomybė nuo substrato koncentracijos S_0 , esant trimis skirtingoms inhibicijos produktu konstantoms (\hat{K}_p): ∞ (inhibicija nevyksta) (1, 2), 0,1 (3, 4) ir 0,01 (5, 6), $\sigma^2 = 1$, $\hat{K}_s = 0,1$, $\delta_d = 30$.

Tuo atveju, kai inhibicija produktu yra sąlyginai maža ($\hat{K}_p = 0,1$, 3 ir 4 kreivės), ir inhibicijos substratu konstanta yra lygi inhibicijos produktu konstantai ($\hat{K}_p = \hat{K}_s = 0,1$), biojutiklio atsako elgsena yra labai panaši į tą, kuri stebima nesant inhibicijos produktu. Kaip matome iš 4.2 pav., labai staigus biojutiklio atsako pokytis įvyksta substrato koncentracijoms S_0 esant intervale nuo 2,3 iki 2,5. Esant šioms koncentracijoms, maksimaliosios ir stacionariosios srovių stipriai smarkiai išsiskiria.

Kai inhibicija produktu yra sąlyginai didelė ($\hat{K}_p = 0,01$), staigus atsako pokytis nėra stebimas. Koncentracija, ties kuria išsiskiria maksimalioji ir stacionarioji srovės, yra šiek tiek pasislinkusi mažesnių koncentracijų link ($S_0 = 1,9$).

Biojutiklio maksimalusis atsakas skiriasi, jeigu skiriasi inhibicijos produktu konstanta. Šis skirtumas ypatingai ryškiai matomas, esant aukštomis substrato koncentracijoms ($S_0 \geq 2,3$). Tuo tarpu stacionariąją srovę inhibicija produktu veikia menkai, o esant aukštesnėms substrato koncentracijoms $S_0 \geq 3$, ir visai nedaro įtakos.

4.1.4. Biojutiklio atsako nemonotoniškumas

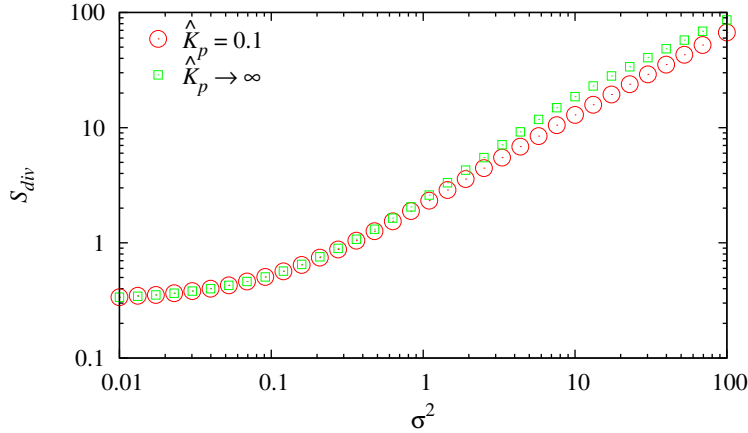
Maksimaliosios ir stacionariosios srovių išsiskyrimas buvo stebėtas ir tais atvejais, kai buvo modeliuota tik inhibicija substratu (Kulys ir Baronas, 2006). Toliau detaliam tirsime maksimaliosios ir stacionariosios srovių atsiskyrimą plačiuose difuzijos modulio reikšmių, o taip pat ir inhibicijos substratu bei produktu konstantų reikšmių, intervaluose.

Norėdami išsamiai ištirti difuzijos modulio σ^2 įtaką biojutiklio atsako nemonotoniškumui, įvedame naują biojutiklį apibūdinantį dydį, rodantį minimalią bedimensę substrato koncentraciją S_{div} , ties kuria išsiskiria maksimalioji ir stacionarioji biojutiklio srovės:

$$S_{div}(\sigma^2, \hat{K}_p, \hat{K}_s) = \min\{S_0 : I_{max}(\sigma^2, \hat{K}_p, \hat{K}_s, S_0) \neq I_{st}(\sigma^2, \hat{K}_p, \hat{K}_s, S_0)\}, \quad (4.7)$$

čia $I_{max}(\sigma^2, \hat{K}_p, \hat{K}_s, S_0)$ ir $I_{st}(\sigma^2, \hat{K}_p, \hat{K}_s, S_0)$ yra atitinkamai maksimalioji ir stacionarioji bedimensės biojutiklio srovės, paskaičiuotos, esant nurodytoms parametrų σ^2 , \hat{K}_p , \hat{K}_s ir S_0 reikšmėms. Esant substrato koncentracijai S_0 mažesnei už S_{div} , biojutiklio maksimalioji ir stacionarioji srovės yra vienodos.

Skaitinių eksperimentų rezultatai pateikti 4.3 pav. Kaip matome iš kreivių, esančių 4.3 pav., koncentracija S_{div} monotoniškai ir netiesiškai didėja,



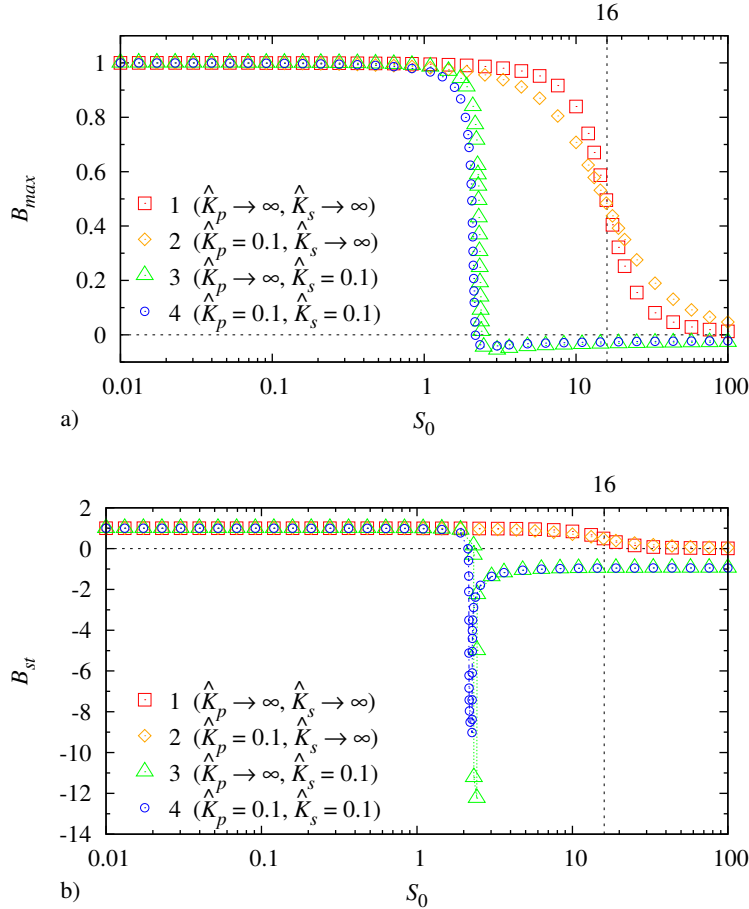
4.3 pav. Substrato koncentracijos S_{div} priklausomybė nuo difuzijos modulio dydžio σ^2 , esant dviem skirtingiems inhibicijos produktu konstantos \hat{K}_p dydžiams: ∞ ir $0,1$; $\hat{K}_s = 0,1$, $\delta_d = 30$.

didinant difuzijos modulį σ^2 . Koncentracija S_{div} praktiškai neveikiama inhibicijos produktu konstantos \hat{K}_p , kai difuzijos modulis yra santykinai mažas ($\sigma^2 \in [0,01; 0,1]$). Tuo tarpu, kai difuzijos modulis yra santykinai didelis ($\sigma^2 \in [1; 100]$), inhibicijos produktu konstanta pastebimai veikia koncentraciją S_{div} . Prie didesnių σ^2 reikšmių dydis S_{div} , situacijoje, kai inhibicija produktu nevyksta ($\hat{K}_p \rightarrow \infty$), yra didesnis už tą, kuris gaunamas, vykstant inhibicijai produktu ($\hat{K}_p = 0,1$).

4.1.5. Biojutiklio jautrio priklausomybė nuo substrato koncentracijos

Biojutiklio jautrio priklausomybė nuo substrato koncentracijos buvo tirta, esant dviem skirtingiems inhibicijos substratu ir produktu konstantų dydžiams ir plačiame substrato koncentracijų intervale ($0,01 \leq S_0 \leq 100$). Atlikus skaitinius eksperimentus, buvo apskaičiuoti abiejų tipų biojutiklio jautriai B_{max} ir B_{st} . Rezultatai pateikti 4.4 pav.

4.4 pav. matome keletą labai skirtingo pavidalo kreivių. 1 ir 2 kreivės, atitinkančios biojutiklius, kuriuose nevyksta inhibicija substratu, turi platesnius segmentus su labai aukštu biojutiklio jautriu (B_{max} ir B_{st} yra apytiksliai lygūs 1), nei kreivės, atitinkančios biojutiklius su vykstančia inhibicija substratu (3 ir 4 kreivės). Esant inhibicijos substratu konstantai $\hat{K}_s = 0,1$, viršutinis koncentracijų intervalas, kuriame biojutiklis yra labai jautrus, režis sumažėja maždaug dešimteriopai. Biojutiklio su inhibicija substratu abiejų tipų jautriai (B_{max} ir B_{st}) artimi nuliui, kai substrato koncentracija S_0 yra tarp 2,1 ir 2,5. Tuo tarpu biojutiklis be inhibicijos substratu yra pakankamai jautrus (jautris ne mažiau 0,5) iki substrato kon-



4.4 pav. Biojutiklio jautrio B_{max} (a) ir B_{st} (b) priklausomybė nuo substrato koncentracijos S_0 ; $\delta_d = 30$.

centracijos $S_0 = 16$, kur $B_{max} \approx 0,5$. Inhibicijos produktu įtaka biojutiklio jautriui (tiek B_{max} , tiek B_{st}) yra gana menka.

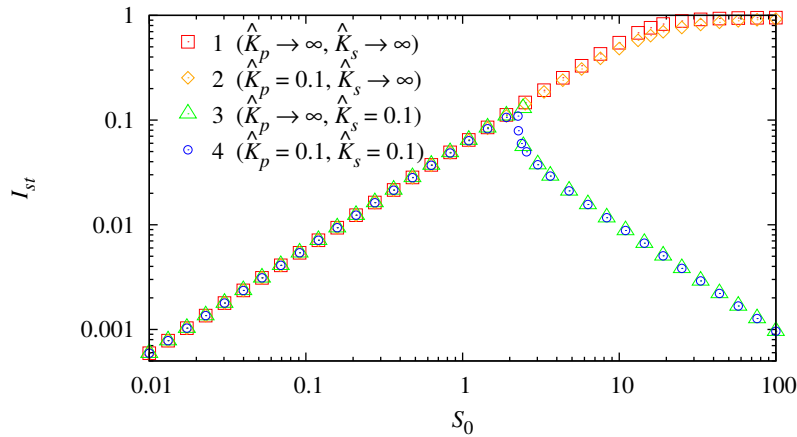
Kaip matome iš 4.4 pav., biojutiklio su inhibicija substratu jautris gali įgyti ir neigiamas reikšmes. Neigiamas biojutiklio jautris reiškia, kad maksimalioji (B_{max} atveju) arba stacionarioji (B_{st} atveju) srovė mažėja, nors substrato koncentracija didinama (4.2 pav.). Tuo atveju, kai jautris yra skaičiuojamas pagal maksimalųjį atsaką (4.4a pav.), neigiamas biojutiklio jautris B_{max} išlieka artimu nuliui ($0,02 < |B_{max}| < 0,06$). Biojutiklių su inhibicija substratu $\hat{K}_s = 0,1$, matuojančių tik maksimalųjį biojutiklio atsaką, praktiškai neįmanoma panaudoti koncentracijų matavimams atlikti, kai koncentracijos yra aukštesnės už $2K_M$ ($S_0 > 2, s_0 > 2K_M$).

Lyginant biojutiklio su inhibicija substratu jautrius B_{st} ir B_{max} , pastebime, kad kreivių pavidalas smarkiai skiriasi, tačiau šis skirtumas atsiranda, tik esant santykinai aukštomis substrato koncentracijoms ($S_0 > 2$), kur abiejų tipų jautrių reikšmės yra neigiamos.

Biojutikliai su inhibicija substratu, galintys matuoti stacionariają srovę

I_{st} , galėtų būti sėkmingai naudojami matuoti substrato koncentracijoms tame koncentracijų intervale, kur biojutiklio jautris B_{st} yra neigiamas. Toks išmanusis biojutiklis turėtų naudoti dvi kalibracijos kreives: vieną tame koncentracijų intervale, kur biojutiklio atsakas yra tiesiogiai proporcingas substrato koncentracijai, ir kitą tame intervale, kur biojutiklio atsakas atvirkščiai proporcingas substrato koncentracijai.

Tuo atveju, kai biojutiklyje stebima tik inhibicija substratu (3 kreivė 4.4b pav.), biojutiklio jautris B_{st} pasiekia minimumą, esant substrato koncentracijai $S_0 = 2,4$ ($B_{st} = -12,2$). Tuo atveju, kai biojutiklyje stebima tiek inhibicija substratu, tiek inhibicija produktu (4 kreivė), biojutiklio jautris B_{st} pasiekia minimumą, esant substrato koncentracijai $S_0 = 2,3$ ($B_{st} = -9,0$). Taškai, kuriuose jautris įgyja minimalias reikšmes, rodo substrato koncentracijas, ties kuriomis biojutiklio stacionaraus atsako grafikuose yra stačiausias nuolydis (4.5 pav.). Esant aukštesnėms substrato koncentracijoms iki $S_0 = 100$, biojutiklio jautris išlieka aukštu (B_{st} nusistovi ties maždaug $-0,9$, 4.4b pav.).



4.5 pav. Stacionariosios bedimensės srovės I_{st} priklausomybė nuo substrato koncentracijos S_0 ; $\delta_d = 30$.

Nepaisant aukšto biojutiklių su inhibicija substratu jautrio (B_{st}), šie biojutikliai turi rimtą trūkumą: nepakanka išmatuoti stacionariąją biojutiklio srovę tam, kad būtų nustatyta substrato koncentracija. Kaip matome iš 4.5 pav., stacionarioji srovė I_{st} yra nemonotoniška funkcija nuo substrato koncentracijos S_0 . Dėl šios priežasties tam, kad būtų vienareikšmiškai nustatyta substrato koncentracija S_0 , reikalinga papildoma informacija. Pavyzdžiui, išmanusis biojutiklis galėtų išmatuoti ne tik stacionariąją biojutiklio srovę I_{st} , bet ir maksimaliąją I_{max} . Jeigu $I_{st} < I_{max}$, tai biojutiklis turėtų naudoti kalibracijos kreivę, kur srovė I_{st} yra atvirkščiai proporcinga

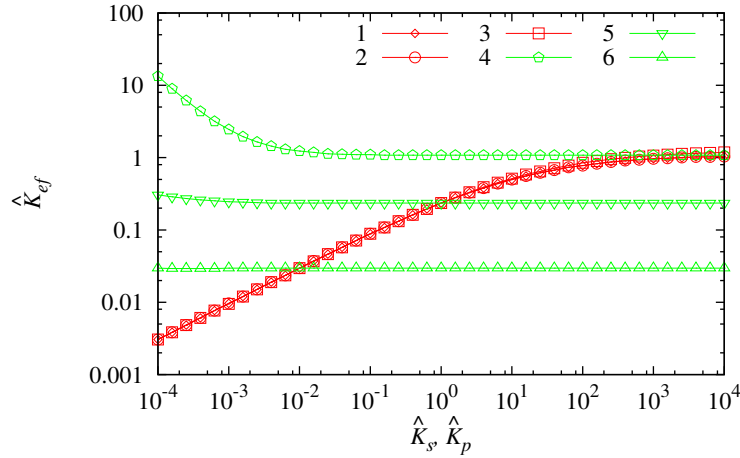
substrato koncentracijai S_0 . Kitu atveju, turėtų būti naudojama kalibracijos kreivė, kurioje biojutiklio atsakas I_{st} yra tiesiogiai proporcingas substrato koncentracijai S_0 . Substrato koncentracija taip pat galėtų būti nustatoma vienareikšmiškai tais atvejais, kai apytikslis koncentracijos dydis yra žinomas prieš atliekant matavimus biojutikliu.

Patyrinęs kreives, esančias 4.4 pav., galime daryti išvadą, kad stacionariosios biojutiklio srovės matavimas gali duoti daugiau naudos nei maksimaliosios srovės matavimas. Tais atvejais, kai biojutiklyje nėra stebima inhibicija substratu, stacionarioji ir maksimalioji biojutiklio srovės sutampa. Tuo tarpu tais atvejais, kai inhibicija substratu yra stebima, stacionariosios biojutiklio srovės I_{st} matavimas gali būti naudingesnis, nes tai suteikia galimybę matuoti aukštesnes substrato koncentracijas.

4.1.6. Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo inhibicijos substratu ir produktu

Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo inhibicijos substratu ir produktu buvo tirta plačiuose inhibicijos konstantų reikšmių intervaluose ($\hat{K}_s, \hat{K}_p \in [10^{-4}..10^4]$). Skaitinių eksperimentų rezultatai pateikti 4.6 pav. Priklausomybė nuo inhibicijos substratu buvo tirta, esant trimis skirtingoms inhibicijos produktu konstantos reikšmėms: kai inhibicija produktu nevyksta ($\hat{K}_p \rightarrow \infty$, 1 kreivė), kai vyksta vidutiniško smarkumo inhibicija produktu ($\hat{K}_p = 1$, 2 kreivė), ir kai vyksta smarki inhibicija produktu ($\hat{K}_p = 0,01$, 3 kreivė). Tuo atveju, kai inhibicija produktu nevyksta, reakcijos schema (2.1)–(2.3) supaprastėja iki (2.1), (2.2). Priklausomybė nuo inhibicijos produktu buvo tirta, esant trimis skirtingoms inhibicijos substratu konstantos reikšmėms: kai inhibicija substratu nevyksta ($\hat{K}_s \rightarrow \infty$, 4 kreivė), kai vyksta vidutiniško smarkumo inhibicija substratu ($\hat{K}_s = 1$, 5 kreivė), ir kai vyksta smarki inhibicija substratu ($\hat{K}_s = 0,01$, 6 kreivė). Tuo atveju, kai inhibicija substratu nevyksta, reakcijos schema (2.1)–(2.3) supaprastėja iki (2.1), (2.3).

Efektyvioji Michaelio konstanta nepriklauso nuo inhibicijos produktu smarkumo plačiame inhibicijos produktu konstantų intervale ($\hat{K}_p \in [10^{-2}..10^4]$). Tačiau, esant labai smarkiai inhibicijai produktu ($\hat{K}_p \in [10^{-4}..10^{-2}]$), ir nesant inhibicijos substratu (4 kreivė), efektyvioji Michaelio konstanta yra priklausoma nuo inhibicijos produktu smarkumo. Šiame intervale \hat{K}_{ef} yra monotoniškai mažėjanti funkcija nuo \hat{K}_p , tačiau inhibicija substratu šį efektą eliminuoja. Tuo atveju, kai inhibicija substratu yra vidutinio smarkumo ($\hat{K}_s = 1$, 5 kreivė), \hat{K}_p įtaka yra vos pastebima, o esant smarkiai inhibicijai



4.6 pav. Efektyviosios Michaelio konstantos \hat{K}_{ef} priklausomybė nuo inhibicijos substratu (1, 2, 3) ir produktu (4, 5, 6) konstantų \hat{K}_s ir \hat{K}_p ; $\sigma^2 = 0,01$, $\delta_d = 30$.

substratu ($\hat{K}_s = 0,01$, 6 kreivė), efektas ir visai pranyksta.

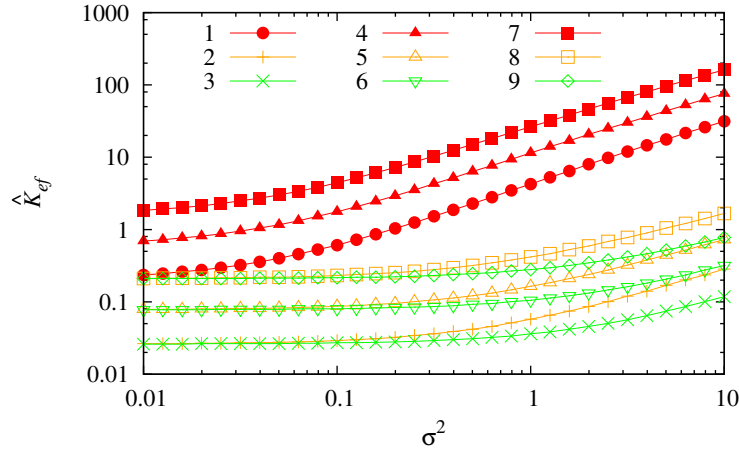
Kaip matome iš 4.6 pav. (1, 2 ir 3 kreivės), efektyvioji Michaelio konstanta tolydžiai, netiesiškai didėja, didinant konstantą \hat{K}_s . Didėjant inhibicijos substratu konstantai \hat{K}_s , kreivė darosi lėkštesnė – efektyvioji Michaelio konstanta \hat{K}_{ef} artėja prie maksimaliosios savo reikšmės. Kadangi maža ir vidutinė inhibicija produktu nedaro įtakos \hat{K}_{ef} reikšmei, 1 ir 2 kreivės yra identiškoms. Tik esant mažai inhibicijai substratu (esant aukštoms \hat{K}_s reikšmėms), 3 kreivė, atitinkanti didelę inhibiciją produktu ($\hat{K}_p = 0,01$), šiek tiek atsiskiria nuo 1 ir 2 kreivių, atitinkančių atvejus be inhibicijos produktu ir su maža inhibicija produktu ($\hat{K}_p = 1$). Tai tas pats pozityvus inhibicijos produktu efektas, kuris aiškiai matomas 4 kreivėje.

Išanalizavę 4.6 pav. pavaizduotas kreives, galime daryti išvadą, kad inhibicija substratu veikia efektyviają Michaelio konstantą priešingai nei inhibicija produktu. Pagrindinis skirtumas yra tas, kad inhibicija substratu daro įtaką efektyviosios Michaelio konstantos dydžiui labai plačiame inhibicijos konstantos dydžių intervale, tuo tarpu inhibicijos produktu įtaka jaučiamą, tik esant labai didelei inhibicijai, ir kai šis efektas nėra užmaskuotas inhibicijos substratu.

4.1.7. Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo difuzijos modulio

Difuzijos modulio σ^2 įtaka efektyviosios Michaelio konstantos \hat{K}_{ef} dydžiui buvo tirta, esant trims skirtingoms inhibicijos substratu konstantoms: esant didelei inhibicijai substratu ($\hat{K}_s = 0,01$), esant vidutinei inhibicijai

substratu ($\hat{K}_s = 0,1$) ir esant mažai inhibicijai substratu ($\hat{K}_s = 1$), o taip pat esant trims skirtingoms Biot skaičiaus reikšmėms: $Bi = 0,01$, $Bi = 1$ ir $Bi = 100$. Rezultatai pateikti 4.7 pav.



4.7 pav. Efektyviosios Michaelio konstantos \hat{K}_{ef} priklausomybė nuo difuzijos modulio σ^2 , esant trims skirtingoms inhibicijos substratu konstantos (\hat{K}_s) reikšmėms: 0,01 (1, 2, 3), 0,1 (4, 5, 6), 1 (7, 8, 9), o taip pat esant trims skirtingoms Biot skaičiaus (Bi) reikšmėms: 0,01 (1, 4, 7), 1 (2, 5, 8), 100 (3, 6, 9), $\hat{K}_p = 0,1$.

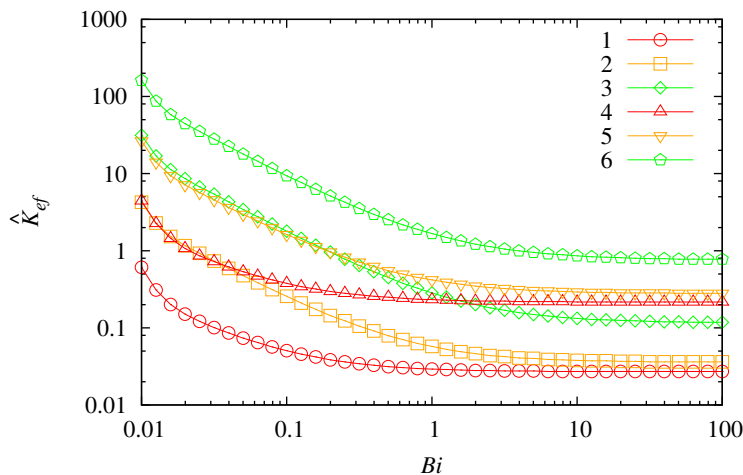
Kaip matome iš 4.7 pav., efektyvioji Michaelio konstanta didėja, didinant difuzijos modulį σ^2 . Vis dėlto, dalyje intervalo σ^2 nedaro įtakos \hat{K}_{ef} dydžiui. Biot skaičiaus dydis nulemia minimalų difuzijos modulio dydį, nuo kurio difuzijos modulis pradeda veikti \hat{K}_{ef} . Kaip matome iš 4.7 pav., kai Biot skaičius yra mažas (1, 4 ir 7 kreivės), difuzijos modulis pradeda daryti įtaką konstantos \hat{K}_{ef} dydžiui, esant pakankamai mažoms difuzijos modulio reikšmėms $\sigma^2 > 0,01$, tuo tarpu, kai Biot skaičius yra vidutiniškas ar didelis (atitinkamai 2, 5, 8 kreivės ir 3, 6, 9 kreivės), difuzijos modulis pradeda veikti \hat{K}_{ef} , tik esant $\sigma^2 > 0,1$. Palyginę skirtingų kreivių nuožulnumą, taip pat galime daryti išvadą, kad Biot skaičius nulemia \hat{K}_{ef} konstantos jautrumą difuzijos moduliui σ^2 . 1, 4 ir 7 kreivės, atitinkančios mažą Biot skaičių ($Bi = 0,01$), yra statesnės nei 2, 5 ir 8 kreivės, atitinkančios vidutinės Biot skaičiaus reikšmės ($Bi = 1$), kurios savo ruožtu yra statesnės už kreives 3, 6, 9, atitinkančias didelį Biot skaičių ($Bi = 100$). Kuo statesnė kreivė, tuo efektyvioji Michaelio konstanta yra jautresnė difuzijos modulio pokyčiams.

Inhibicija substratu veikia efektyviają Michaelio konstantą visame tirname difuzijos modulio σ^2 reikšmių intervale, o taip pat prie visų tirtų Biot skaičiaus reikšmių. Didesnė inhibicijos substratu konstanta nulemia didesnę efektyviają Michaelio konstantą \hat{K}_{ef} .

Konstantos \hat{K}_{ef} reikšmės yra didesnės, esant mažam Biot skaičiui $Bi = 0,01$ (1, 4, 7 kreivės), nei esant vidutiniškam ar dideliam Biot skaičiui, atitinkamai $Bi = 1$ (2, 5, 8 kreivės) ir $Bi = 100$ (3, 6, 9 kreivės). Esant vidutiniškam ir dideliam Biot skaičiui, prie mažų difuzijos modulio reikšmių, Biot skaičius nedaro įtakos konstantos \hat{K}_{ef} dydžiui.

4.1.8. Efektyviosios Michaelio konstantos priklausomybė nuo Biot skaičiaus

Kreivės, pavaizduotos 4.8 pav., parodo kokią įtaką efektyviajai Michaelio konstantai daro Biot skaičius. Kaip matome, \hat{K}_{ef} yra monotoniška mažėjanti funkcija nuo Bi . Esant didesnėms Bi reikšmėms, efektyviosios Michaelio konstantos \hat{K}_{ef} reikšmė nusistovi ir nekinta. Biot skaičiaus reikšmių intervale, kuriame funkcijos $\hat{K}_{ef}(Bi)$ reikšmė nekinta, kairysis režis priklauso nuo difuzijos modulio. Kai difuzijos modulis yra mažas – $\sigma^2 = 0,1$ (1, 4 kreivės), šio intervalo kairysis režis yra ties $Bi \approx 1$, tuo tarpu, kai difuzijos modulis yra vidutiniškas ar didelis, atitinkamai $\sigma^2 = 1$ ir $\sigma^2 = 10$, šis režis yra pasislinkęs didesnių Biot skaičiaus reikšmių link.



4.8 pav. Efektyviosios Michaelio konstantos \hat{K}_{ef} priklausomybė nuo Biot skaičiaus (Bi), esant dviem skirtingoms inhibicijos substratu konstantos (\hat{K}_s) reikšmėms: 0,01 (1, 2, 3), 1 (4, 5, 6), o taip pat esant trims skirtingoms difuzijos modulio (σ^2) reikšmėms: 0,1 (1, 4), 1 (2, 5), 10 (3, 6); $\hat{K}_p = 0,1$.

4.2. Biojutiklio su substratų sinergija skaitinis savybių tyrimas

4.2.1. Biojutiklio veikimo kompiuterinis modeliavimas

Biojutiklio su substratų sinergija modeliavimo uždavinys buvo išspręstas skaitiniu baigtinių skirtumų metodu (Britz, 2005; Samarskii, 2001; Kvedaras ir Sapagovas, 1974). Buvo sudaryta išreikštinė baigtinių skirtumų schema, naudojanti tolygųjį diskretųjį tinklą su 200 tinklo mazgų kiekviename biojutiklio sluoksnyje.

Simuliacijos buvo vykdomos iki to laiko momento, kai biojutiklio srovės pokytis pasidarydavo nykstamai mažas per santykinai ilgą laiko tarpą. Atsako laikas buvo skaičiuojamas pagal (3.19) formulę, naudojant gesimo konstantą $\varepsilon = 10^{-3}$.

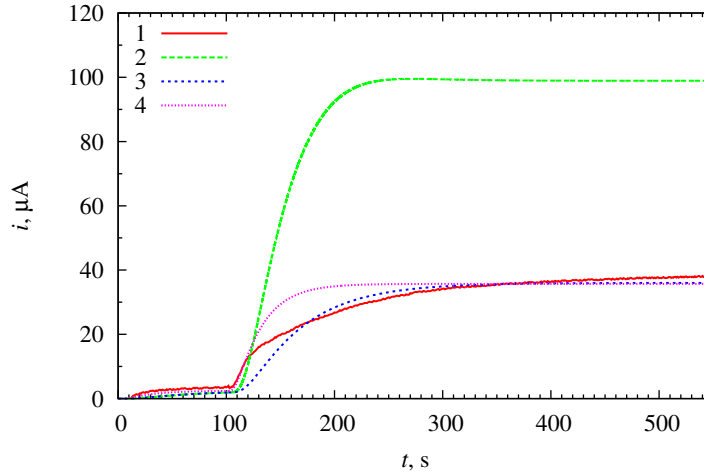
Šios modelio parametrų reikšmės buvo naudotos visuose skaitiniuose eksperimentuose:

$$\begin{aligned}k_1 &= 1,25 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}, & k_2 &= 1,2 \times 10^2 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}, \\e_0 &= 0,04 \text{ mmol/l}, & r_0 &= 40 \text{ mmol/l}, \\D_{R1} &= D_{S,1} = D_{P,1} = 3,15 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}, & i &= 1, 2, \\D_{R2} &= D_{S,2} = D_{P,2} = 4,2 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}, & i &= 1, 2, \\D_{R3} &= D_{S,3} = D_{P,3} = 6,3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}, & i &= 1, 2, \\d_1 &= 23,3 \text{ }\mu\text{m}, & d_2 &= 18,6 \text{ }\mu\text{m}, \\n_1 &= n_2 = 1.\end{aligned}$$

4.2.2. Skaitinio modelio patvirtinimas

Matematinio modelio (2.33)-(2.41) skaitinio eksperimento rezultatai buvo palyginti su fizinio eksperimento rezultatais (Kulys ir Tetianec, 2005). Rezultatų palyginimas pateiktas 4.9 pav. Eksperimentiniai duomenys buvo stumtelti per -30 s laiko ašyje ir per $-1,9 \mu\text{A}$ srovės stiprio ašyje (Kulys ir Tetianec, 2005). Korekcija laiko ašyje buvo pritaikyta tam, kad reduktoriaus R pridėjimas į tirpalą fiziniame eksperimente sutaptų su matematinio modelio momentu $t = 0$ s. Korekcija srovės stiprio ašyje buvo pritaikyta tam, kad būtų eliminuota foninės srovės įtaka biojutiklio atsakui.

Atliekant fizinį eksperimentą, substratas S_2 buvo įvestas į tiriamąjį tirpalą laiko momentu $t = 130$ s, kas atitinka $t = 100$ s skaitiniame eksperimente. Taigi, atliekant skaitinį eksperimentą, buvo naudojama $T_{S_2} = 100$ s. Fizinio eksperimento rezultatuose buvo nurodytas srovės stipris, o ne srovės



4.9 pav. Modeliavimo rezultatų palyginimas su eksperimentiniais duomenimis; (1) eksperimentiniai duomenys, (2)-(4) modeliavimo rezultatai. Skaitinio modeliavimo eksperimentai buvo atlikti naudojant dvi reakcijos greičio konstantas (k_3) ($1,4 \times 10^6 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (2) ir $0,35 \times 10^6 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (3, 4)), o taip pat naudojant dvi difuzijos sluoksnio storio (d_3) reikšmes ($223 \mu\text{m}$ (2, 3) ir $116,5 \mu\text{m}$ (4)); $k_4 = 1,4 \times 10^6 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $s_{10} = 8 \text{ mmol/l}$, $s_{20} = 39 \mu\text{mol/l}$.

tankis. Srovės stipris gaunamas srovės tankį dauginant iš elektrodo paviršiaus ploto:

$$i = jA, \quad (4.8)$$

čia i – srovės stipris, A – elektrodo paviršiaus plotas. Fiziniam eksperimente buvo naudojamas elektrodas, kurio paviršiaus plotas buvo lygus $A = 0,3 \text{ cm}^2$, o kitų parametru reikšmės buvo tokios: $k_3 = k_4 = 1,4 \times 10^6 \text{ l mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $s_{10} = 8 \text{ mmol/l}$, $s_{20} = 39 \mu\text{mol/l}$, $d_3 = 233 \mu\text{m}$ (Kulys ir Tetianec, 2005).

Naudojant straipsnyje (Kulys ir Tetianec, 2005) nurodytas parametru reikšmes (4.9 pav. 2 kreivė), santykinis skirtumas tarp simuliuotos srovės ir eksperimentu gautos srovės laiko momentu T_{S_2} (prieš įpilant S_2) yra apie 14%. Tai rodo, kad modelis gana tiksliai atspindi fizinį eksperimentą. Vis dėlto, į tirpalą įvedus substratą S_2 , modelio tikslumas suprastėja. Simuliuota stacionarioji srovė yra apie 2,5 karto didesnė už eksperimentinę (4.9 pav. 2 kreivė). Tai rodo, kad fizinis eksperimentas yra sudėtingesnis už sukurtąjį matematinį modelį. Tikėtina, kad fermento oksidacija deguonimi, kuri nėra numatyta matematiniam modelyje, gali būti skirtumo priežastis (Kulys ir Tetianec, 2005). Taip pat skirtumas gali atsirasti dėl oksiduotų heterociklinių junginių (S_2) nestabilumo (Kulys ir Tetianec, 2005). Nepaisant to, kad modelis (2.33)-(2.41) nepateikia tikslių skaitinių rezultatų, jį galima naudoti kinetikos subtilybėms tirti, o taip pat optimizuoti biojutiklio su substratų

sinergija konstrukcija.

4.2.3. Sinergijos efekto modeliavimas

Tam, kad būtų galima sukurti didelio jautrumo biojutiklius, reikia gerai perprasti sinergijos efektą (Kulys ir Tetianec, 2005; Kulys ir Dapkūnas, 2007; Kulys ir Vidziunaite, 2009). Biojutiklio veikimo kinetinei analizei įveskime naujus dydžius \bar{v}_1 , \bar{v}_2 , \bar{v}_3 , \bar{v}_4 – vidutinius reakcijų (2.32a), (2.32b), (2.32c), (2.32d) greičius fermento sluoksnyje:

$$\bar{v}_1 = k_1 \bar{e}_{ox} \bar{r}, \quad (4.9a)$$

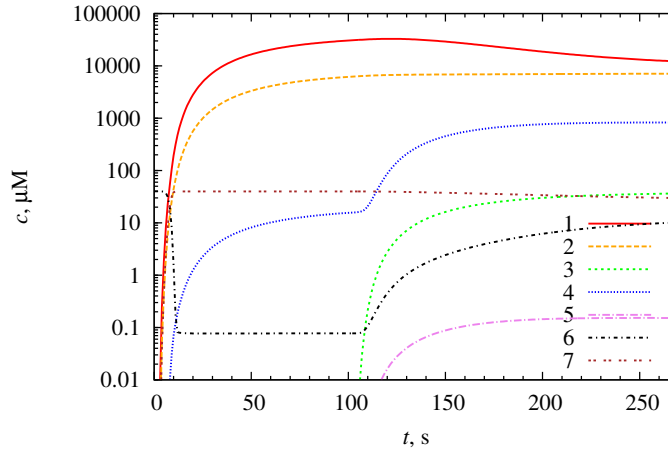
$$\bar{v}_2 = k_2 \bar{e}_{red} \bar{s}_1, \quad (4.9b)$$

$$\bar{v}_3 = k_3 \bar{e}_{red} \bar{s}_2, \quad (4.9c)$$

$$\bar{v}_4 = k_4 \bar{s}_1 \bar{p}_2, \quad (4.9d)$$

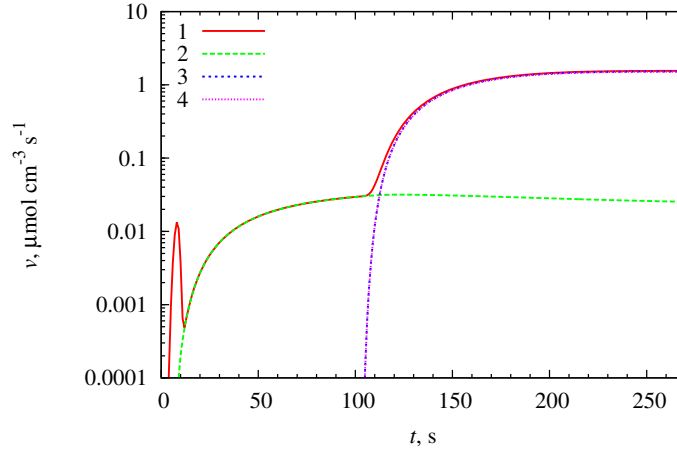
čia \bar{r} , \bar{s}_1 , \bar{s}_2 , \bar{p}_1 , \bar{p}_2 , \bar{e}_{ox} ir \bar{e}_{red} yra vidutinės medžiagų R, S₁, S₂, P₁, P₂, E_{ox} ir E_{red} koncentracijos fermento sluoksnyje.

Paveikslėliai 4.10 ir 4.11 rodo, kaip įvyksta sinergijos efektas. Modeliuojant buvo naudoti tokie patys biojutiklio parametrai, kaip ir skaičiuojant taškus 4.9 pav. 2 kreivei.



4.10 pav. Vidutinių koncentracijų \bar{r} (1), \bar{s}_1 (2), \bar{s}_2 (3), \bar{p}_1 (4), \bar{p}_2 (5), \bar{e}_{ox} (6) ir \bar{e}_{red} (7) kitimas laike.

Kai substratas S₂ įvedamas į tirpalą, prasideda greita reakcija (2.32c) ir pagaminami dideli kiekiai E_{ox} bei P₂ molekulių (4.10 pav.). Tuo pačiu padidėjusi E_{ox} koncentracija padidina reakcijos (2.32a) greitį, o P₂ molekulės pradeda reaguoti su S₁ molekulėmis reakcijoje (2.32d) (4.11 pav.). Dėl padidėjusio reakcijos (2.32a) greičio sumažėja fermento reduktoriaus R koncentracija, kadangi R yra vienas iš šios reakcijos reagentų (4.10 pav.).



4.11 pav. Vidutinių reakcijų (2.32a)-(2.32d) greičių \bar{v}_1 (1), \bar{v}_2 (2), \bar{v}_3 (3), \bar{v}_4 (4) fermento sluoksnyje kitimas laike (3 ir 4 kreivės sutampa).

Reakcijos (2.32a) ir (2.32c) yra smarkiai susietos tarpusavyje, nes E_{ox} yra reakcijos (2.32c) produktas ir reakcijos (2.32a) reagentas, o medžiaga E_{red} atvirkščiai. Panaši situacija yra su reakcijomis (2.32c), (2.32d) ir medžiagomis P_2 , S_2 .

Reakcijos (2.32c) greitį veikia S_2 koncentracija. Reakcijas (2.32a) ir (2.32d) paspartina reakcija (2.32c), gamindama jų reagentus, ir laikui bėgant, šių reakcijų greičiai susilygina su reakcijos (2.32c) greičiu. Todėl reakcijų (2.32a), (2.32c) ir (2.32d) greičiai yra labai panašūs beveik visą laiką nuo substrato S_2 įvedimo į tirpalą (4.11 pav.). Reakcijos (2.32b) greitis beveik nepakinta.

Reakcijos (2.32b) ir (2.32d) gamina produktą P_1 , kuris yra atsakingas už biojutiklio srovę. Kadangi reakcijos (2.32b) greitis beveik nepakinta, o reakcijos (2.32d) greitis yra didesnis už reakcijos (2.32b) greitį dviem eilėmis, tai biojutiklio atsakas taip pat padidėja dviem eilėmis. Kitaip sakant, signalas yra sustiprinamas chemiškai. Šio tipo biojutikliuose būtent tokio rezultato ir yra tikimasi iš substratų sinergijos efekto (Kulys ir Tetianec, 2005).

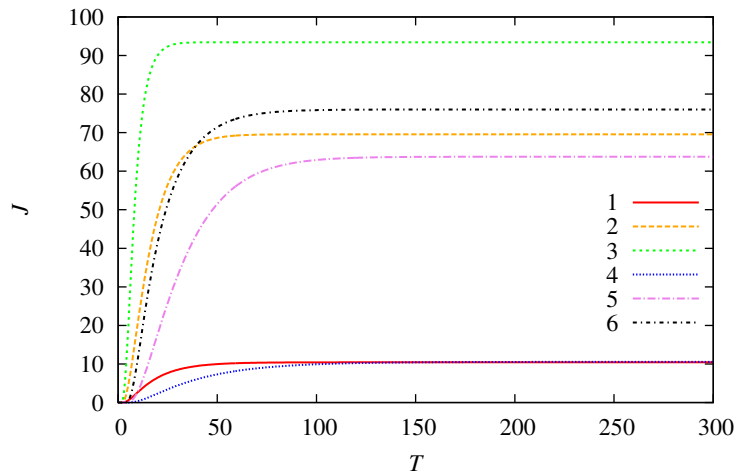
Norėdami papildomai patikrinti skaitinį diferencialinio kraštinio uždavinio (2.33)-(2.40) sprendinį, taikome masės tvermės dėsnį. Kadangi fermentas yra imobilizuotas, ir laikome, kad fermento molekulių difuzija fermento sluoksnyje nevyksta, tai lygybė $e_{ox}(x, t) + e_{red}(x, t) = e_0$ turi būti tenkinama visada, kai $\forall x \in [0, a_1]$ ir $\forall t \geq 0$. Nusistovėjus pusiausvyrai, kai $\partial s_{im}/\partial t = \partial p_{im}/\partial t = 0$, lygybė $s_{im}(x, t) + p_{im}(x, t) = s_{i0}$ teisinga, kai $\forall x \in [a_{m-1}, a_m]$ ir $t \rightarrow \infty$, $i = 1, 2$, $m = 1, 2, 3$. Iš 4.10 pav. galima matyti, kad šios sąlygos yra tenkinamos (atkreiptinas dėmesys, kad koncentracijos

yra pateiktos logaritminėje skalėje).

4.2.4. Biojutiklio atsako dinamika

Tolesni skaitiniai tyrimai bus atliekami, naudojant 2.2.8 skirsnyje pateiktą bedimensį modelį.

4.12 pav. pavaizduotos kreivės rodo biojutiklio srovės tankio J dinamiką. Biojutiklio veikimas buvo simuliuotas, esant dviem difuzijos sluoksnio storiams (δ_3) ir trims substrato S_2 koncentracijoms (\hat{S}_{20}). Paprastumo dėlei, šiame ir tolesniuose skaitiniuose eksperimentuose substratas S_2 yra įvedamas į tirpalą nuo eksperimento pradžios, t.y. ($\hat{T}_{S_2} = 0$).



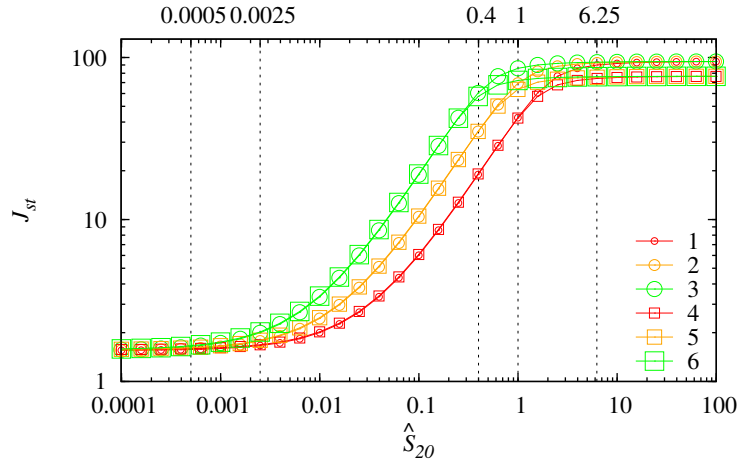
4.12 pav. Biojutiklio srovės tankio J kitimas, esant skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams (δ_3) (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)) bei substrato S_2 koncentracijoms (\hat{S}_{20}) (0,1 (1, 4 kreivės), 1 (2, 5 kreivės) ir 10 (3, 6 kreivės)); $\hat{k}_3 = \hat{k}_4 = 112$, $\hat{S}_{10} = 200$.

Esant mažai substrato koncentracijai ($\hat{S}_{20} = 0,1$), stacionarioji biojutiklio srovė nėra veikiamą difuzijos sluoksnio storio δ_3 , tačiau keičiantis difuzijos sluoksnio storiui, keičiasi kreivės $J(T)$ forma, ir biojutiklis su plonesniu difuzijos sluoksniu anksčiau pasiekia pusiausvyrą. Paskutinis teiginys yra teisingas, ir esant didesnėms substrato koncentracijoms ($\hat{S}_{20} = 1$, $\hat{S}_{20} = 10$).

Iš 4.12 pav. esančių kreivių taip pat galime išvelgti kitą labai svarbų sąryšį – stacionarioji srovė yra tuo didesnė, kuo didesnė yra substrato S_2 koncentracija tirpale \hat{S}_{20} . Esant aukštesnėms substrato koncentracijoms ($\hat{S}_{20} = 1$, $\hat{S}_{20} = 10$), galime pastebėti, kad stacionarioji biojutiklio srovė sumažėja, didinant difuzijos sluoksnio storį δ_3 . Tai rodo, kad dirbant su aukštos koncentracijos tirpalais, tirpalo maišymo intensyvumas yra svarbus faktorius, į kurį būtina atsižvelgti.

4.2.5. Substratų koncentracijų įtaka biojutiklio atsakui

Stacionariosios biojutiklio srovės tankio priklausomybė nuo substrato S_2 koncentracijos \hat{S}_{20} buvo tirta, esant skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 , o taip pat prie skirtingų reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 reikšmių. Skaitinio modeliavimo rezultatai pateikti 4.13 pav.

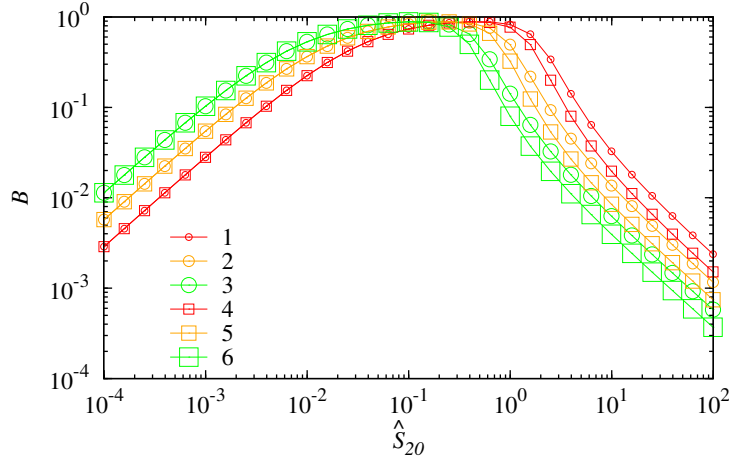


4.13 pav. Stacionariosios biojutiklio srovės tankio J_{st} priklausomybė nuo substrato koncentracijos \hat{S}_{20} , esant dviem skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams (δ_3) (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)) bei trimis skirtingoms reakcijos (2.32c) greičio konstantos (\hat{k}_3) reikšmėms (56 (1, 4 kreivės), 112 (2, 5 kreivės) ir 224 (3, 6 kreivės)); $\hat{k}_4 = 112$, $\hat{S}_{10} = 200$.

Biojutiklis gali patikimai išmatuoti substrato S_2 koncentraciją tokiu atveju, kai koncentracija \hat{S}_{20} priklauso intervalui, kur biojutiklio atsakas yra priklausomas nuo šios koncentracijos ir nėra priklausomas nuo difuzijos sluoksnio storio δ_3 . Kaip matome iš 4.13 pav., šis intervalas priklauso nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 . Apatinis šio intervalo rėžis kinta nuo $\hat{S}_{20} \approx 0,0005$, kai \hat{k}_3 yra santykinai didelė (3, 6 kreivės), iki $\hat{S}_{20} \approx 0,0025$, kai \hat{k}_3 yra santykinai maža (1, 4 kreivės). Viršutinis šio intervalo rėžis kinta nuo $\hat{S}_{20} \approx 0,4$, kai \hat{k}_3 yra santykinai didelė (3, 6 kreivės), iki $\hat{S}_{20} \approx 1$, kai \hat{k}_3 yra santykinai maža (1, 4 kreivės). Esant koncentracijoms $\hat{S}_{20} \gtrsim 6,25$, biojutiklio atsakas nėra priklausomas nuo substrato S_2 koncentracijos.

Biojutiklio jautrio priklausomybė nuo substrato koncentracijos buvo tirta, modeliuojant biojutiklio veikimą, esant tokiems patiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 ir tokioms pačioms reakcijos greičio konstantoms \hat{k}_3 , kaip ir 4.13 pav. Skaičiavimų rezultatai pateikti 4.14 pav.

Kaip matome iš 4.14 pav., biojutiklio jautris yra didžiausias tuomet, kai substrato S_2 koncentracija yra vidutinio dydžio ($0,01 \leq \hat{S}_{20} \leq 1$). Esant mažoms substrato S_2 koncentracijoms ($0,0001 \leq \hat{S}_{20} < 0,01$), o taip pat ir



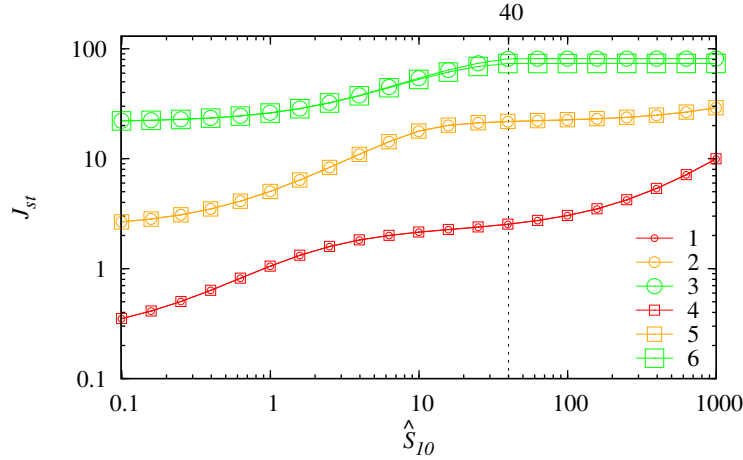
4.14 pav. Biojutiklio jautrio B priklausomybė nuo substrato koncentracijos \hat{S}_{20} . Parametrų reikšmės tokios pat, kaip ir 4.13 pav.

didelėms S_2 koncentracijoms ($1 < \hat{S}_{20} \leq 100$), biojutiklio jautris yra prastas.

Esant mažoms substrato koncentracijoms, didėjant \hat{k}_3 reikšmėms, didėja ir biojutiklio jautrumas, tuo tarpu difuzijos sluoksnio storis δ_3 šiame koncentracijų intervale neveikia biojutiklio atsako, taigi ir jautrumo. Esant didelėms substrato koncentracijoms, \hat{k}_3 kitimas priešingai veikia biojutiklio jautrumą, palyginti su mažų koncentracijų intervalu – didinant \hat{k}_3 , biojutiklio jautrumas mažėja. Šiame koncentracijų intervale difuzijos sluoksnio storis daro įtaką ir biojutiklio atsakui, ir jautrumui – storesnis difuzijos sluoksnis lemia biojutiklio jautrumo sumažėjimą.

Šio tipo biojutikliai yra skirti matuoti substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} , tačiau taip pat svarbu ištirti biojutiklio atsako priklausomybę nuo substrato S_1 koncentracijos \hat{S}_{10} , kad būtų galima optimizuoti biojutiklio konfiguraciją. Stacionariosios biojutiklio srovės tankio J_{st} priklausomybė nuo substrato S_1 koncentracijos \hat{S}_{10} buvo tirta, esant skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 ir skirtingoms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} . Modeliavimo rezultatai pateikti 4.15 pav.

Kaip matome iš kreivių, esančių 4.15 pav., biojutiklio atsakas didėja, didinant koncentraciją \hat{S}_{10} . Esant mažoms ir vidutinėms substrato S_2 koncentracijoms, ši priklausomybė galioja visame tirtame koncentracijų \hat{S}_{10} intervale. Esant didelėms substrato S_2 koncentracijoms ($\hat{S}_{20} = 2,5$), ši priklausomybė galioja tik intervalo dalyje su mažomis substrato S_1 koncentracijomis ($\hat{S}_{10} < 40$). Prie didesnių S_1 koncentracijų ($\hat{S}_{10} > 40$) biojutiklis tampa praktiškai nejautrus koncentracijos \hat{S}_{10} pokyčiams. Difuzijos sluoksnio storio δ_3 įtaka biojutiklio atsakui jaučiama, tik esant didelėms substratų S_1 ir S_2 koncentracijoms.



4.15 pav. Stacionariosios biojutiklio srovės tankio J_{st} priklausomybė nuo substrato koncentracijos \hat{S}_{10} , esant dviem skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams (δ_3) (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)) bei trims substrato S_2 koncentracijoms (\hat{S}_{20}) (0,025 (1, 4 kreivės), 0,25 (2, 5 kreivės) ir 2,5 (3, 6 kreivės)); $\hat{k}_3 = \hat{k}_4 = 112$.

4.2.6. Biojutiklio atsako sandara

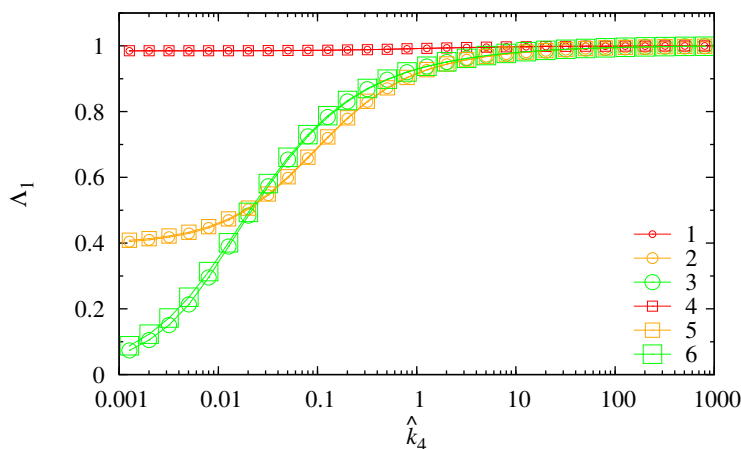
Biojutiklio atsaką lemia dvi elektrocheminės reakcijos (2.32e) ir (2.32f). Labai svarbu perprasti kiekvienos elektrocheminės reakcijos vaidmenį, esant skirtingiems biojutiklio parametrams.

Biojutiklio srovės sandara buvo tirta, esant skirtingoms reakcijos greičio konstantoms \hat{k}_4 , skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 ir prie skirtingų substrato S_2 koncentracijų \hat{S}_{20} . Skaitinio modeliavimo rezultatai pateikti 4.16 pav.

Kaip matome iš 4.16 pav., stacionariosios srovės generuojamos elektrocheminės reakcijos (2.32e) santykinė dalis biojutiklio atsake yra tuo didesnė, kuo didesnė yra greičio konstanta \hat{k}_4 . Tai galima paaiškinti pažiūrėjus, kaip veikia reakcija (2.32d). Kuo greitesnė reakcija (2.32d), tuo daugiau ji sunaudoja produkto P_2 ir tuo daugiau ji pagamina produkto P_1 .

Esant mažoms \hat{S}_{20} koncentracijoms, reakcijos greičio konstantos \hat{k}_4 dydis daro labai menką įtaką biojutiklio atsako sandarai (1 ir 4 kreivės). Esant tokioms substrato S_2 koncentracijoms, beveik visą biojutiklio srovę generuoja elektrocheminė reakcija (2.32e). Kaip matome iš reakcijų schemos (2.32), mažos substrato S_2 koncentracijos tiesiogiai lemia mažas produkto P_2 koncentracijas, tai ir paaiškina dideles Λ_1 reikšmes prie žemų \hat{S}_{20} koncentracijų.

Esant didelėms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} , reakcijos greičio konstanta \hat{k}_4 daro labai didelę įtaką biojutiklio atsako sandarai. Kai konstanta \hat{k}_4 yra pakankamai maža, santykinė srovės tankio j_{1st} dalis Λ_1 yra mažesnė



4.16 pav. Srovių santykio Λ_1 priklausomybė nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_4 , esant dviem skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)) bei esant trims skirtingoms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} (0,0025 (1, 4), 0,25 (2, 5) ir 25 (3, 6)); $\hat{k}_3 = 112$, $\hat{S}_{10} = 200$.

už 0,5, t.y. didžioji srovės dalis yra generuojama elektrocheminės reakcijos (2.32f).

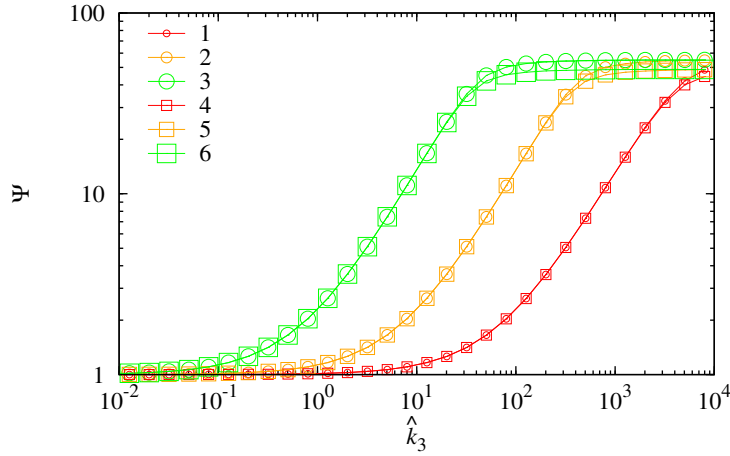
Iš 4.16 pav. taip pat galime pastebėti, kad difuzijos sluoksnio storio δ_3 pokyčiai tik labai menkai daro įtaką biojutiklio atsakai.

4.2.7. Substratų sinergijos įtaka biojutiklio atsakui

Substratų sinergijos efektas buvo analizuotas, naudojant dydį Ψ , rodantį cheminio signalo stiprinimo dydį. Buvo tirta cheminio signalo stiprinimo dydžio priklausomybė nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 , esant skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 , o taip pat esant skirtingoms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} . Skaitinio modeliavimo rezultatai pateikti 4.17 pav.

Svarbiausias dėsningumas, kurį galima išvelgti iš 4.17 pav., yra tas, kad Ψ yra monotoniškai didėjanti funkcija nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 . Esant aukštesnei reakcijos (2.32c) greičio konstantai \hat{k}_3 , pagaminama daugiau produkto P_2 molekulių. Dėl didesnės P_2 koncentracijos pagreitėja reakcija (2.32d) ir atitinkamai padaugėja produkto P_1 . Kaip matėme 4.2.6 skirsnyje, produktas P_1 yra pagrindinė medžiaga, reaguojanti ant elektrodo paviršiaus ir generuojanti biojutiklio srovę.

Iš 4.17 pav. taip pat galime pastebėti, kad aukštesnės substrato S_2 koncentracijos \hat{S}_{20} lemia didesnę cheminį stiprinimą. Esant mažoms reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 reikšmėms ($\hat{k}_3 < 0,1$), šis efektas yra gana silpnas, tačiau esant vidutinėms greičio konstantos \hat{k}_3 reikšmėms (nuo 10 iki 100), šis efektas yra stipriai išreikštas prie visų \hat{S}_{20} koncentracijų. Tuo tarpu,



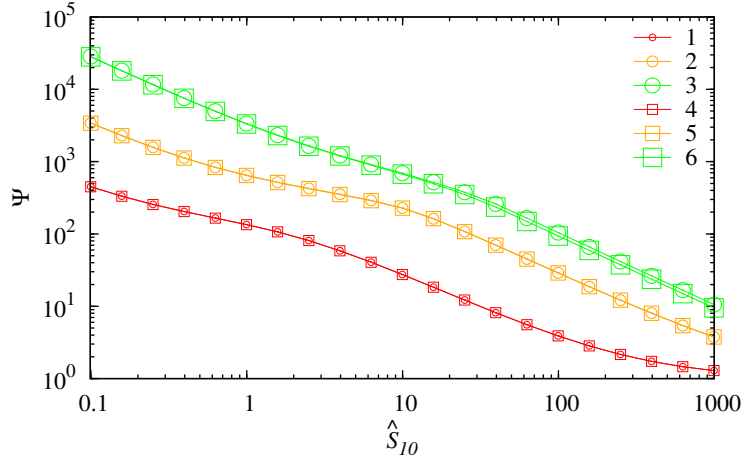
4.17 pav. Cheminio signalo stiprinimo Ψ priklausomybė nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 , esant dviem skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)), bei esant trimis skirtingoms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} (0,025 (1, 4 kreivės), 0,25 (2, 5 kreivės) ir 2,5 (3, 6 kreivės)); $\hat{k}_4 = 112$, $\hat{S}_{10} = 200$.

esant didelėms reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 reikšmėms ($\hat{k}_3 > 1000$), šis efektas vėl pastebimai sumažėja. Teigiamą koncentracijos \hat{S}_{20} įtaką sinergijos efektui galima paaiškinti reakcijos (2.32c) greičio padidėjimu, kurį lemia padidėjusi reakcijos reagento koncentracija. Esant mažoms \hat{k}_3 reikšmėms, tai nėra taip pastebima, nes padidėjusi reagento koncentracija neatsveria mažo \hat{k}_3 dydžio. Esant didelėms \hat{k}_3 reikšmėms, sistema pasiekia tašką, kur cheminis stiprinimas Ψ pasidaro nepriklausomas nuo reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 . Difuzijos sluoksnio storio δ_3 įtaka jaučiama, tik esant didelėms reakcijos greičio konstantos \hat{k}_3 reikšmėms.

Taip pat buvo ištirta substrato S_1 koncentracijos įtaka biojutiklio srovės cheminiam stiprinimui. Buvo atlikti skaitiniai eksperimentai, esant skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 , bei esant skirtingoms substrato S_2 koncentracijoms \hat{S}_{20} . Skaitinio modeliavimo rezultatai pateikti 4.18 pav.

Kaip matome iš 4.18 pav., biojutiklio atsako cheminis stiprinimas Ψ yra didžiausias, esant mažoms substrato S_1 koncentracijoms, ir atitinkamai silpniausias, esant aukštoms \hat{S}_{10} koncentracijoms. Taigi matome, kad substrato S_1 koncentracijos \hat{S}_{10} įtaka biojutiklio atsakui, pavaizduota 4.15 pav., galėtų būti dar didesnė, jeigu didinant \hat{S}_{10} nesusilpnėtų cheminio stiprinimo efektas. O šiuo atveju, esant mažoms koncentracijoms \hat{S}_{10} , signalas yra smarkiai stiprinamas chemiškai, tuo tarpu, esant aukštoms substrato S_1 koncentracijoms \hat{S}_{10} , yra atvirkščiai.

Difuzijos sluoksnio storis menkai veikia cheminį signalo stiprinimą kon-



4.18 pav. Cheminio signalo stiprinimo Ψ priklausomybė nuo substrato S_1 koncentracijos \hat{S}_{10} , esant dviem skirtingiems difuzijos sluoksnio storiams δ_3 (5 (1, 2, 3 kreivės) ir 10 (4, 5, 6 kreivės)), bei esant trims skirtingoms substrato S_1 koncentracijoms \hat{S}_{20} (0,025 (1, 4 kreivės), 0,25 (2, 5 kreivės) ir 2,5 (3, 6 kreivės)); $\hat{k}_3 = \hat{k}_4 = 112$.

centracijos \hat{S}_{10} intervale, tirtame šio skaitinio eksperimento metu. Šiek tiek didesnė difuzijos sluoksnio storio įtaka stebima, tik esant palyginti aukštoms abiejų substratų S_1 ir S_2 koncentracijoms.

4.3. Apibendrinimas

Šiame skyriuje atliktas biojutiklių modelių, pateiktų 2 skyriuje, korektiškumo patvirtinimas. Taikant šiuos modelius, buvo atlikti biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu bei biojutiklio su substratų sinergija savybių bei elgsenos tyrimai. Kompiuterinio modeliavimo tyrimai buvo atlikti programine įranga, pristatyta 3 skyriuje.

Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu adekvatumas buvo tirtas, lyginant skaitinių eksperimentų rezultatus su žinomais analiziniais sprendiniais atskiriems atvejams. Patvirtinus biojutiklio modelio adekvatumą, buvo atlikti biojutiklio savybių ir elgsenos tyrimai, varijuojant įvairius biojutiklio parametrus. Daug dėmesio buvo skirta maksimalios biojutiklio srovės atsiradimui ir galimam panaudojimui, kuriant naujus biojutiklius.

Biojutiklio su substratų sinergija adekvatumas buvo tirtas, lyginant skaitinio eksperimento rezultatus su fizinio eksperimento rezultatais. Patvirtinus modelio adekvatumą, buvo atlikti biojutiklio savybių ir elgsenos tyrimai. Didelis dėmesys buvo skirtas sinergijos efektui ir sąlygų, reikalingų jam pasireikšti, identifikavimui.

Išvados

1. Biojutiklio su inhibicija substratu ir produktu bei biojutiklio su substratų sinergija kompiuterinį modeliavimą galima automatizuoti. Sukurta programine įranga galima apibrėžti biojutiklio struktūrą ir jame vykstančius fizikocheminius procesus dalykinės srities sąvokomis ir atlikti kompiuterinio modeliavimo eksperimentus, nekuriant matematinio ir skaitinio biojutiklio modelių.
2. Kompiuterinis modeliavimas parodė, kad amperometrinis biojutiklis, kuriame vyksta inhibicija substratu, gali matuoti substrato koncentracijas platesniame koncentracijų intervale nei biojutiklis, kuriame inhibicija substratu nevyksta, kai visi kiti biojutiklių parametrai sutampa.
3. Taikant kompiuterinį modeliavimą, galima išsiaiškinti fizikinių ar cheminių procesų svarbą biojutiklio veikimui:
 - (a) esant tam tikriems biojutiklio su substratų sinergija parametrams, jo atsaką gali apspręsti vien tik pirmoji elektrocheminė reakcija;
 - (b) substratų sinergija, sustiprinanti biojutiklio atsaką chemiškai, ypač ryškiai pasireiškia tuo atveju, kai reakcija, gaminanti produktą atsakingą už biojutiklio srovę, vyksta žymiai greičiau nei kita reakcija, gaminanti šį produktą.

Autoriaus publikacijos

Straipsniai periodiniuose recenzuojamuose leidiniuose

- 1A. D. Šimelevičius, R. Baronas. Computational modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. *Journal of Mathematical Chemistry*, 47(1):430–445, 2010. ISSN 0259-9791.
- 2A. D. Šimelevičius, R. Baronas. Amperometrinių biojutiklių su sinerginių substratų stiprinimu kompiuterinis modeliavimas. *Informacijos mokslai*, 56:174–181, 2011. ISSN 1392-0561.
- 3A. D. Simelevicius, R. Baronas, J. Kulys. Modelling of amperometric biosensor used for synergistic substrates determination. *Sensors*, 12(4):4897–4917, 2012. ISSN 1424-8220.

Straipsniai recenzuojamuose konferencijų leidiniuose

- 4A. D. Šimelevičius, R. Baronas. Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. In: A. Targamadžė, R. Butleris and R. Butkienė, eds., *Information Technologies'2008 - Proceedings of 14th International Conference on Information and Software Technologies*, pp. 125–130. Kaunas University of Technology, 2008. ISSN 2029-0020.
- 5A. D. Simelevicius, R. Baronas. Mechanisms controlling the sensitivity of amperometric biosensors in the case of substrate and product inhibition. In: A. Omerovic, D. A. Simoni and G. Bobashev, eds., *SIMUL 2011: The Third International Conference on Advances in System Simulation*, pp. 69–74. IARIA, 2011. ISBN 978-1-61208-169-4.

Literatūra

- S. W. Ambler. *The Elements of UML 2.0 Style*. Cambridge University Press, Cambridge, 2005.
- A. J. Bard. Effect of electrode configuration and transition time in solid electrode chronopotentiometry. *Analytical Chemistry*, 33(1):11–15, 1961.
- A. J. Bard, L. R. Faulkner. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Inc, 2nd edn., 2001.
- A. J. Bard, G. Inzelt, F. Scholz. *Electrochemical Dictionary*. Springer, Berlin Heidelberg, 2008.
- R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. The effect of diffusion limitations on the response of amperometric biosensors with substrate cyclic conversion. *Journal of Mathematical Chemistry*, 35(3):199–213, 2004a.
- R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors*, vol. 9 of *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors*. Springer, Dordrecht, 2010.
- R. Baronas, F. Ivanauskas, A. Survila. Simulation of electrochemical behavior of partially blocked electrodes under linear potential sweep conditions. *Journal of Mathematical Chemistry*, 27(4):267–278, 2000.
- R. Baronas, J. Kulys. Modelling amperometric biosensors based on chemically modified electrodes. *Sensors*, 8(8):4800–4820, 2008.
- R. Baronas, J. Kulys, F. Ivanauskas. Mathematical model of the biosensors acting in a trigger mode. *Sensors*, 4(4):20–36, 2004b.
- R. Baronas, J. Kulys, F. Ivanauskas. Modelling amperometric enzyme electrode with substrate cyclic conversion. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(8):915–922, 2004c.
- P. N. Bartlett, R. G. Whitaker. Electrochemical immobilisation of enzymes: Part I. Theory. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 224(1-2):27–35, 1987.
- S. J. Benkovic, H. S. Schiffer. A perspective on enzyme catalysis. *Science*, 301(5637):1196–1202, 2003.
- J. O. Bockris, A. K. N. Reddy. *Ionics*, vol. 1 of *Modern Electrochemistry*. Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2nd edn., 2002.

- J. O. Bockris, A. K. N. Reddy, M. Gamboa-Aldeco. *Fundamentals of Electrodeics*, vol. 2A of *Modern Electrochemistry*. Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2nd edn., 2002.
- L. D. Bowers, P. W. Carr. Immobilized enzymes in analytical chemistry. *In: Advances in Biochemical Engineering*, vol. 15, pp. 89–129. Springer, Berlin, Heidelberg, 1980.
- I. Bratkovskaja, R. Ivanec, J. Kulys. Mediator-assisted laccase-catalyzed oxidation of 4-hydroxybiphenyl. *Biochemistry (Moscow)*, 71:550–554, 2006.
- G. E. Briggs, J. B. S. Haldane. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochemical Journal*, 19:338–339, 1925.
- D. Britz. *Digital Simulation in Electrochemistry*, vol. 666 of *Lecture Notes in Physics*. Springer, Berlin Heidelberg, 3rd edn., 2005.
- A. J. Brown. Enzyme action. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 81:373–388, 1902.
- R. Chang. *Physical Chemistry for the Biosciences*. University Science Books, 2005.
- A. Chaubey, B. Malhotra. Mediated biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 17(6-7):441–456, 2002.
- A. Ciliberto, F. Capuani, J. J. Tyson. Modeling networks of coupled enzymatic reactions using the total quasi-steady state approximation. *PLoS Computational Biology*, 3(3):e45, 2007.
- L. C. Clark, Jr. Monitor and control of blood and tissue oxygen tensions. *Transactions American Society for Artificial Internal Organs*, 2:41–45, 1956.
- L. C. Clark, Jr., C. Lyons. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 102(1):29–45, 1962.
- K. A. Connors. *Chemical kinetics: the study of reaction rates is solution*. VCH Publishers, 1990.
- A. Cornish-Bowden. *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. Portland Press, London, 3rd edn., 2004.
- R. Čiegis. *Diferencialinių lygčių skaitiniai sprendimo metodai*. Technika, Vilnius, 2003.
- B. B. Damaskin, O. A. Petrii, G. A. Tsirlina. *Elektrokhimiya*. Khimiya, Moscow, 2nd edn., 2008.
- E. De la Barrera. On the sesquicentennial of Fick’s laws of diffusion. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12(4):280, 2005.
- E. T. Denisov, O. M. Sarkisov, G. I. Likhtenshtein. *Chemical Kinetics: Fundamentals and New Developments*. Elsevier Science, 2003.

- C. Diviès. Remarques sur l'oxydation de l'éthanol par une "électrode microbienne" d'*Acetobacter xylinum*. *Annales de microbiologie*, 126(2):175–186, 1975.
- B. Eggins. *Chemical Sensors and Biosensors*. Analytical Techniques in the Sciences. Wiley, 2002.
- L. S. Ferreira, M. B. D. Souza, J. O. Trierweiler, O. Broxtermann, R. O. M. Folly, B. Hitzmann. Aspects concerning the use of biosensors for process control: experimental and simulation investigations. *Computers and Chemical Engineering*, 27(8-9):1165–1173, 2003.
- A. E. Fick. Über diffusion. *Poggendorff's Annalen der Physik und Chemie*, 94:59–86, 1855.
- M. Fowler. *UML Distilled. A Brief Guide to the Standard Object Modeling Language*. Addison-Wesley, 3rd edn., 2003.
- E. Gaidamauskaitė, R. Baronas, J. Kulys. Modelling synergistic action of laccase-based biosensor utilizing simultaneous substrates conversion. *Journal of Mathematical Chemistry*, 49:1573–1586, 2011. 10.1007/s10910-011-9844-1.
- V. G. Gavalas, N. A. Chaniotakis. Polyelectrolyte stabilized oxidase based biosensors: effect of diethylaminoethyl-dextran on the stabilization of glucose and lactate oxidases into porous conductive carbon. *Analytica Chimica Acta*, 404(1):67–73, 2000.
- M. Giardi, E. Piletska. *Biotechnological Applications of Photosynthetic Proteins: Biochips, Biosensors, and Biodevices*. Biotechnology Intelligence Unit. Landes Bioscience/Eurekah.com, 2006.
- H. Gutfreund. *Kinetics for the Life Sciences: Receptors, Transmitters and Catalysts*. Cambridge University Press, Cambridge, 1995.
- J. Ha, C. R. Engler, S. J. Lee. Determination of diffusion coefficients and diffusion characteristics for chlorferon and diethylthiophosphate in Ca-Alginate gel beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 100(4):698–706, 2008.
- IUPAC. *Compendium of chemical terminology. Gold book*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 2nd edn., 1997.
- F. Ivanauskas, I. Kaunietis, V. Laurinavičius, J. Razumienė, R. Šimkus. Apparent Michaelis constant of the enzyme modified porous electrode. *Journal of Mathematical Chemistry*, 43(4):1516–1526, 2008.
- J. Kadziauskas. *Biochemijos pagrindai*. Vilniaus universiteto leidiniai, 2012.
- J.-P. Kernevez. *Enzyme Mathematics*, vol. 10 of *Studies in Mathematics and its Applications*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1980.
- J. R. Knowles. Enzyme catalysis: not different, just better. *Nature*, 350(6314):121–124, 1991.

- J. Kulys. Development of new analytical systems based on biocatalysers. *Enzyme and Microbial Technology*, 3(4):344–352, 1981.
- J. Kulys. Kinetics of biocatalytical synergistic reactions. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 10(3):223–233, 2005.
- J. Kulys. Biosensor response at mixed enzyme kinetics and external diffusion limitation in case of substrate inhibition. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 11(4):385–392, 2006.
- J. Kulys, R. Baronas. Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate inhibition. *Sensors*, 6(11):1513–1522, 2006.
- J. Kulys, Ž. Dapkūnas. The effectiveness of synergistic enzymatic reaction with limited mediator stability. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 12(4):495–501, 2007.
- J. Kulys, L. Tetianec. Synergistic substrates determination with biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(1):152–158, 2005.
- J. Kulys, L. Tetianec, I. Bratkovskaja. Pyrroloquinoline quinone-dependent carbohydrate dehydrogenase: activity enhancement and the role of artificial electron acceptors. *Biotechnology Journal*, 5(8):822–828, 2010.
- J. Kulys, R. Vidziunaite. Laccase based synergistic electrocatalytical system. *Electroanalysis*, 21(20):2228–2233, 2009.
- B. Kvedaras, M. Sapagovas. *Skaičiavimo metodai*. Mintis, Vilnius, 1974.
- C. Larman. *Applying UML and Patterns: An Introduction to Object-Oriented Analysis and Design and the Unified Process*. Prentice Hall PTR, 2nd edn., 2001.
- B. Li, Y. Shen, B. Li. Quasi-steady state laws in enzyme kinetics. *Journal of Physical Chemistry A*, 112(11):2311–2321, 2008.
- J. F. Liang, Y. T. Li, V. C. Yang. Biomedical application of immobilized enzymes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(8):979–990, 2000.
- L. L. Looger, M. A. Dwyer, J. J. Smith, H. W. Hellinga. Computational design of receptor and sensor proteins with novel functions. *Nature*, 423(6936):185–190, 2003.
- R. S. Marks, C. R. Lowe, D. C. Cullen, H. H. Weetall, I. Karube. *Handbook of Biosensors and Biochips*. John Wiley & Sons, 2007.
- L. D. Mell, J. T. Maloy. A model for the amperometric enzyme electrode obtained through digital simulation and applied to the immobilized glucose oxidase system. *Analytical Chemistry*, 47(2):299–307, 1975.
- S. Meriç, O. Tünay, H. A. San. A new approach to modelling substrate inhibition. *Environmental Technology*, 23(2):163–177, 2002.
- L. Michaelis, M. L. Menten. Die kinetik der invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift*, 49:333–369, 1913.

- J. Mirón, M. P. González, J. A. Vázquez, L. Pastrana, M. A. Murado. A mathematical model for glucose oxidase kinetics, including inhibitory, deactivant and diffusional effects, and their interactions. *Enzyme and Microbial Technology*, 34(5):513–522, 2004.
- M. Mösche, H.-J. Jördening. Comparison of different models of substrate and product inhibition in anaerobic digestion. *Water Research*, 33(11):2545–2554, 1999.
- NC-IUB. Symbolism and terminology in enzyme kinetics. Recommendations 1981. *Biochemistry Journal*, 213:561–571, 1983.
- R. S. Ochs. Understanding enzyme inhibition. *Journal of Chemical Education*, 77(11):1453, 2000.
- K. Petrauskas, R. Baronas. One-dimensional modelling of a carbon nanotube-based biosensor. In: *Proc. 26th European Conference on Modelling and Simulation ECMS 2012*, pp. 121–127. 2012.
- M. Pohanka, P. Skládal. Electrochemical biosensors - principles and applications. *Journal of Applied Biomedicine*, 6(2):57–64, 2008.
- W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery. *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, Cambridge, 2nd edn., 1992.
- W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery. *Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, New York, 3rd edn., 2007.
- J. I. Reyes De Corcuera, R. P. Cavalieri, J. R. Powers, J. Tang. Amperometric enzyme biosensor optimization using mathematical modeling. In: *Proceedings of the 2004 ASAE / CsaE Annual International Meeting*. American Society of Agricultural Engineers, Ottawa, Ontario, 2004.
- S. Rodriguez-Mozaz, M. J. L. de Alda, M.-P. Marco, D. Barceló. Biosensors for environmental monitoring: A global perspective. *Talanta*, 65(2):291–297, 2005.
- K. Rogers. Recent advances in biosensor techniques for environmental monitoring. *Analytica Chimica Acta*, 568(1-2):222–231, 2006.
- K. R. Rogers. Biosensors for environmental applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 10(6-7):533–541, 1995.
- N. J. Ronkainen, H. B. Halsall, W. R. Heineman. Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews*, 39(5):1747–1763, 2010.
- A. A. Samarskii. *The Theory of Difference Schemes*. Marcel Dekker, New York-Basel, 2001.
- F. W. Scheller, F. Schubert. *Biosensors*, vol. 11 of *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*. Elsevier, Amsterdam, 1992.
- F. W. Scheller, F. Schubert, J. Fedrowitz. *Practical Applications*, vol. 2 of *Frontiers in Biosensorics*. Birkhäuser, Basel, 1997.

- T. Schulmeister. Mathematical modelling of the dynamic behaviour of amperometric enzyme electrodes. *Selective Electrode Reviews*, 12:203–260, 1990.
- L. A. Segel, M. Slemrod. The quasi-steady-state assumption: a case study in perturbation. *SIAM Review*, 31(3):446–477, 1989.
- D. Shan, C. Mousty, S. Cosnier. Subnanomolar cyanide detection at polyphenol oxidase/clay biosensors. *Analytical Chemistry*, 76(1):178–183, 2004.
- P. Shen, R. Larter. Role of substrate inhibition kinetics in enzymatic chemical oscillations. *Biophysical Journal*, 67(4):1414–1428, 1994.
- H. Shinto, Y. Tashiro, M. Yamashita, G. Kobayashi, T. Sekiguchi, T. Hanai, Y. Kuriya, M. Okamoto, K. Sonomoto. Kinetic modeling and sensitivity analysis of acetone-butanol-ethanol production. *Journal of Biotechnology*, 131(1):45–56, 2007.
- I. Stamatin, C. Berlic, A. Vaseashta. On the computer-aided modelling of analyte-receptor interactions for an efficient sensor design. *Thin Solid Films*, 495(1-2):312–315, 2006.
- J. C. Strikwerda. *Finite difference schemes and partial differential equations*. Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, 2nd edn., 2004.
- A. Survila. *Elektrodnye processy v sistemakh labil'nykh kompleksov metallov*. Mokslas, Vilnius, 1989.
- O. Štikonienė, F. Ivanauskas, V. Laurinavicius. The influence of external factors on the operational stability of the biosensor response. *Talanta*, 81(4-5):1245–1249, 2010.
- D. R. Thévenot, K. Toth, R. A. Durst, G. S. Wilson. Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification. Tech. Rep. 12, Pure and Applied Chemistry, 1999.
- I. E. Tothill. Biosensors developments and potential applications in the agricultural diagnosis sector. *Computers and Electronics in Agriculture*, 30(1-3):205–218, 2001.
- A. P. F. Turner, I. Karube, G. S. Wilson. *Biosensors: Fundamentals and Applications*. Oxford University Press, Oxford, 1987.
- E. W. J. van Niel, P. A. M. Claassen, A. J. M. Stams. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(3):255–262, 2002.
- K. J. Vetter. *Electrochemical Kinetics: Theoretical and Experimental Aspects*. Academic Press, 1967.
- R. Wilson, A. Turner. Glucose oxidase: an ideal enzyme. *Biosensors and Bioelectronics*, 7(3):165–185, 1992.

- X. Wu, C. J. Detzel, B. J. Van Wie, S. J. Haarsma, D. A. Kidwell. Model-based optimization of a conductive matrix enzyme electrode. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(2):204–213, 2004.
- D. Yu, B. Blankert, J.-C. Virè, J.-M. Kauffmann. Biosensors in drug discovery and drug analysis. *Analytical Letters*, 38(11):1687–1701, 2005.

Curriculum Vitae

Vardas, pavardė: Dainius Šimelevičius
Gimimo data ir vieta: 1981 m. lapkričio 17 d., Alytus
Kontaktiniai duomenys:
Adresas: Programų sistemų katedra, Vilniaus universitetas
Didlaukio g. 47, LT-08303 Vilnius
Elektroninis paštas: dainius.simelevicius@mif.vu.lt

Išsilavinimas:

2007–2013 Vilniaus universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas, informatikos doktorantūros studijos.
2004–2006 Vilniaus universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas, informatikos magistrantūros studijos.
2000–2004 Vilniaus universitetas, Matematikos ir informatikos fakultetas, informatikos bakalauro studijos.
1991–2000 Alytaus m. Likiškėlių vidurinė mokykla.
1988–1991 Alytaus m. 6-oji vidurinė mokykla.

Profesinė veikla:

2006–dabar VŠĮ „Aukštieji algoritmai“, programuotojas.
2011–dabar Vilniaus universitetas, jaunesnysis mokslo darbuotojas.

2006–2009 Vilniaus universitetas, asistentas.

Mokslinio domėjimosi sritys: Amperometrinių biojutiklių modeliavimas, elektrocheminė kinetika.

Šeiminė padėtis: Vedęs, žmona Jurgita.

Apdovanojimai: Lietuvos chemijos olimpiados trečiosios vietos laimėtojas (1998), Tarptautinės Mendelejevo vardo chemijos olimpiados trečiojo laipsnio diplomo laimėtojas (2000).

Stipendijos: Lietuvos valstybinio mokslo ir studijų fondo stipendija (2010), Lietuvos mokslo tarybos stipendija (2012).

Pomėgiai: Kelionės, dviračiai, lyguminis slidinėjimas.